



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

LINEKER DE SOUSA LOPES

PAPEL DO OXIGÊNIO DISSOLVIDO EM TORNO DAS RAÍZES NA TOLERÂNCIA DE
ARROZ À SALINIDADE

FORTALEZA

2018

LINEKER DE SOUSA LOPES

PAPEL DO OXIGÊNIO DISSOLVIDO EM TORNO DAS RAÍZES NA TOLERÂNCIA DE
ARROZ À SALINIDADE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor
Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica vegetal associadas à estresses ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Enéas Gomes Filho

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L854p Lopes, Lineker de Sousa.
Papel do oxigênio dissolvido em torno das raízes na tolerância de arroz à salinidade / Lineker de Sousa Lopes. – 2018.
116 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Enéas Gomes Filho.
1. Hipóxia. 2. Barreiras à ROL. 3. *Oryza sativa* L.. 4. Estresse abiótico. I. Título.

CDD 572

LINEKER DE SOUSA LOPES

PAPEL DO OXIGÊNIO DISSOLVIDO EM TORNO DAS RAÍZES NA TOLERÂNCIA DE
ARROZ À SALINIDADE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para obtenção do Título de Doutor
Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica
vegetal associadas à estresses ambientais.

Aprovada em: 08/02/18

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Enéas Gomes Filho (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profª. Dra. Maria Izabel Gallão
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Rafael de Souza Miranda
Universidade Estadual da Região
Tocantina do Maranhão - UEMASUL

Profª. Dra. Dirce Fernandes De Melo
Universidade Federal do Ceará - UFC

Ao Pai de toda criação, Jeová.

A meus pais, Francisco José e Gêrda

AGRADECIMENTOS

À FUNCAP e à CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de doutorado.
Ao INCTsal, pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Dr. Enéas Gomes Filho pela fundamental orientação, amizade, confiança e incentivo à minha formação.

Ao Prof. Dr. Joaquim Enéas Filho pela amizade, confiança e incentivo à minha formação como docente.

Aos professores participantes da Banca examinadora, Prof. Dr. Enéas Gomes Filho, Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho, Profa. Dra. Maria Izabel Gallão, Prof. Dr. Rafael de Souza Miranda, Profa. Dra. Dirce Fernandes De Melo pelo tempo concedido, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos professores e funcionários dos departamentos de Bioquímica e Biologia Molecular, que direta ou indiretamente auxiliaram na minha formação científica.

Ao PET-Agronomia que em muito contribuiu para minha formação acadêmica durante a graduação, assim como os tutores: Prof. Dr. Ervino Bleicher e Profa. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini.

Ao meu pai, Francisco José Lopes, pela educação, incentivo, companheirismo, sabedoria, compreensão e confiança.

À minha mãe, Maria Gêrda Araújo de Sousa Lopes, pelo esforço, educação, incentivo, companheirismo, sabedoria e compreensão.

À minha esposa, Camila Rocha Brasil Lopes, pelo amor, companheirismo e compreensão.

Aos meus avôs, Adelson Araújo (*in memorian*) e Estevão Lopes (*in memorian*).

Às minhas avós, Teresa Araújo e Aurelina Lopes.

A minha irmã, Alynne Lopes, pelo apoio e amizade.

A meu cunhado Alan Martins, pela amizade.

Aos meus primos, Ygor e Iuri Alves, pela amizade e ajuda.

À Rafael Miranda, Viviane Ruppenthal, Elton Marques, Daniel Coelho e Wallace Eric pela ajuda e amizade.

Aos demais componentes do grupo de Fisiologia Vegetal: Prof. Dr. José Tarquínio Prisco, Cibele Gadelha, Daniel Oliveira, Gyedre Araújo, Luckas Huriel, Paulo André pela amizade e convivência.

“Nenhuma grande descoberta foi
feita jamais sem um palpite ousado”

Sir Isaac Newton

RESUMO

A salinidade provoca danos aos vegetais por limitar a absorção de água e nutrientes pela redução no potencial hídrico do solo, bem como ser fonte de íons que intoxicam as plantas promovendo outros estresses. O arroz pode ser considerado um produto agrícola importantíssimo à segurança alimentar humana, já que 85% da sua produção é destinado ao consumo humano. Conferir tolerância à salinidade não significa apenas um ganho econômico, mas um ganho social por facilitar o seu cultivo em zonas marginais de cultivo, onde os produtores não têm solos ou fontes hídricas com ótima qualidade e nem mesmo capacidade de grandes investimentos, assim como no Nordeste brasileiro. A pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito da oxigenação em torno das raízes de arroz através de respostas fisiológicas e bioquímicas capazes de conferir aclimatação à salinidade. Para tanto, foi desenvolvido um experimento em esquema fatorial com três níveis de oxigênio dissolvido na solução nutritiva e três níveis de salinidade durante o período de perfilhamento de plantas arroz cv. SCSBRS 113, a fim de avaliar se suplementação de oxigênio dissolvido na solução nutritiva contribui para o melhor crescimento e desenvolvimento de plantas de arroz sob salinidade. Um segundo experimento foi realizado em esquema fatorial com também com três níveis de oxigenação e apenas dois níveis de salinidade antes do período de perfilhamento para avaliar a sensibilidade aos estresses e a formação das barreiras à perda radial de oxigênio. O crescimento e o desenvolvimento das plantas de arroz sob baixa oxigenação foram muito mais prejudicados que sob salinidade, mas a combinação destes estresses trouxe prejuízos ainda maiores. A alta oxigenação da solução nutritiva contribuiu apenas para um aumento de 25% no crescimento longitudinal das raízes, independentemente, da salinidade a que foi exposta. Não foi verificado neste trabalho participação da salinidade ou da oxigenação em induzir processos catabólicos de clorofila *a*, *b* e carotenoides. De modo geral, concluiu-se que tolerância à salinidade está muito ligada a conservação da condutância estomática, redução do alto fluxo de Na^+ e Cl^- para dentro das raízes e a uma melhor eficiência no combate as espécies reativas de oxigênio principalmente nas folhas, enquanto que a tolerância a uma hipóxia mais severa pode estar relacionada à conservação da condutância estomática, com seu impacto positivo sobre os recursos energéticos e estruturais, além das adaptações das plantas de arroz a este tipo de ambiente. A interação dos tratamentos de oxigenação e salinidade indicou que baixa oxigenação agravou o estresse fisiológico já imposto pela salinidade, e que um aumento de oxigenação teve pouco efeito em reparar ou minorar os danos causados pelo estresse salino.

Palavras-chave: Hipóxia. Barreiras à ROL. *Oryza sativa* L. Estresse abiótico.

ABSTRACT

Salinity causes damage to plants by limiting the absorption of water and nutrients by reducing the soil water potential, being a source of ions that intoxicate the vegetable by its excess, and by inducing other stresses. Rice can be considered a very important agricultural product for human food security, since 85% of the total rice production is destined for human consumption. Conferencing tolerance to salinity does not only mean an economic gain, but a social gain for the facilitation of its cultivation in marginal areas of cultivation, where the producers do not have soils or water sources with great quality and not even capacity of great investments, as well as in the northeast Brazilian. The objective of this research was to evaluate the influence of oxygenation around rice roots on physiological and biochemical mechanisms capable of conferring acclimation to salinity. For that, an experiment was developed in a factorial scheme with three levels of oxygenation around the roots of rice plants cv. SCSBRS 113 and three levels of salinity during the tillering period to evaluate through the physiological and biochemical responses the oxygenation action around the roots of rice, as well as their interaction with the salinity. A second experiment was carried out in a factorial scheme with three levels of oxygenation around the roots and two levels of salinity before the tillering period to evaluate the sensitivity to the stresses and the formation of the ROL barriers. The growth and development of rice plants under low oxygenation were much more impaired than under salinity, but the combination of these stresses brought even greater losses. In addition, the high oxygenation of the nutrient solution only contributed to a longitudinal growth of 25% of the roots, independently of the salinity. No participation of salinity or oxygenation in inducing catabolic processes of chlorophyll *a*, *b* and carotenoids was observed in this study. On the other hand, low oxygenation contributed to a restriction of hexoses. In general, it was concluded that tolerance to salinity is closely linked to the conservation of stomatal conductance, reduction of the high flux of Na⁺ and Cl⁻ into the roots and a better efficiency in the fight against ROS mainly in leaves, while tolerance to a higher hypoxia may be related to the conservation of stomatal conductance, with its positive impact on the energy and structural resources, besides the adaptations of the rice plants to this type of environment. The interaction of oxygenation and salinity treatments indicated that low oxygenation aggravated the physiological stress already imposed by salinity and that an increase in oxygenation had little effect on repairing or alleviating saline stress.

Keywords: Hypoxia. ROL Barriers. *Oryza sativa* L. Abiotic stress.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Número de perfilhos (A), massa seca da parte aérea (B), massa seca foliar (C), massa seca de raízes (D), área foliar (E), área foliar por perfilho (F), comprimento da parte aérea (G) e comprimento da raiz (H) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.....41
- Figura 2 – Interação entre os tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) para taxa de assimilação líquida de carbono (A; A), condutância estomática (g_s ; B), taxa de transpiração (E ; C), razão entre concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a ; D), eficiência de carboxilação (A/C_i ; E) e eficiência instantânea do uso de água (A/E ; F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 11. Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação. 44
- Figura 3 – Interação entre os tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e tempo de avaliação (2, 6 e 10 dias) para taxa de assimilação líquida de carbono (A; A), condutância estomática (g_s ; B), taxa de transpiração (E ; C), razão entre concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a ; D), eficiência de carboxilação (A/C_i ; E) e eficiência instantânea do uso de água (A/E ; F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 11. Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de tempo de avaliação e as letras maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação dentro de cada tratamento de oxigenação. 46
- Figura 4 – Interação entre os tratamentos de salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) e tempo de avaliação (2, 6 e 10 dias) para condutância estomática (g_s ; B), e interação não significativa para taxa de assimilação líquida de carbono (A; A), condutância estomática (g_s ; B), taxa de transpiração (E ; C), razão entre concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a ; D), eficiência de carboxilação (A/C_i ; E) e eficiência instantânea do uso de água (A/E ; F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 11. Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de tempo de avaliação e as letras

maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação dentro de cada tratamento de salinidade.47

Figura 5 – Teor de clorofila a (Cfl_a; C), clorofila b (Cfl_b; D), clorofila total (Cfl_{total}; E) e carotenoides (F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.48

Figura 6 – Teores de Na⁺ nas raízes (A) e nas folhas (B), e teores de Cl⁻ nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.49

Figura 7 – Teores de K⁺ nas raízes (A) e nas folhas (B), e teores de Ca²⁺ nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.51

Figura 8 – Teores de sacarose nas folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. ...52

Figura 9 – Teores de glicose nas raízes (A) e nas folhas (B), de frutose nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade.53

Figura 10 - Teores de proteína nas raízes (A) e nas folhas (B), e de MDA nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e

as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação. 54

Figura 11 – Atividade enzimática da SOD nas raízes (A) e nas folhas (B), da G-POD nas raízes (C) e da CAT nas folhas (D), da APX nas raízes (E) e nas folhas (F) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação. 55

Figura 12 – Teores de AsA nas raízes (A) e nas folhas (B), de ascorbato total nas raízes (C) e nas folhas (D), e o estado redox do ascorbato nas raízes (E) e nas folhas (F) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação. 58

Figura 13 – Teores de GSH nas raízes (A) e nas folhas (B), de GSH + GSSG nas raízes (C) e nas folhas (D), e o estado redox da glutathiona nas raízes (D) e nas folhas (E) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação. 60

Figura 14 – Teor de lignina nas raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade...61

Figura 15 – Conteúdo de água das folhas (CAF) aos 5 (A) e 10 (B) dias e teor de lignina nas raízes aos 5 (C) e 10 (D) dias de aplicação de tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0 e 80 mM de NaCl). As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação. 63

- Figura 16 – Área foliar aos 5 (A) e 10 (B) dias, comprimento da parte aérea aos 5 (C) e 10 (D) dias e comprimento da raiz aos 5 (E) e 10 (F) dias de aplicação de tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação. 64
- Figura 17 – Área foliar (A), comprimento da parte aérea (B) e comprimento das raízes (C), número de perfilhos (D), conteúdo de água das folhas (E) e teor de lignina (F) aos 5, 10 e 15 dias de aplicação de tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)]. As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tempo de coleta e as letras maiúsculas os tempos de coleta dentro de cada tratamento de oxigenação. 66
- Figura 18 – Foto das plantas (A) e raízes (B) de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] aos 15 dias de aplicação de tratamentos. Barras da escala correspondem a 10 cm. 67
- Figura 19 – Cortes transversais de raízes de plantas de arroz aos 5 dias após aplicação dos tratamentos na ausência de salinidade e na oxigenação de: $< 3,5$ (A, G); $\pm 5,5$ (B, H); $\pm 7,5$ (C, I) ppm de oxigênio dissolvido (OD), e na presença de salinidade (80 mM de NaCl) e na oxigenação de: $< 3,5$ (D, J); $\pm 5,5$ (E, K); $\pm 7,5$ (F, L) ppm de OD, corados com azul de toluidina e safranina. Epiderme (epi), exoderme (exo), esclerênquima (esc), córtex (cor), endoderme (end) e cilindro central (cc). As setas (\Rightarrow) indicam locais de coloração mais intensa. Barra de escala (■) = 100 μ m. .. 68
- Figura 20 - Cortes transversais de raízes de plantas de arroz aos 10 dias após aplicação dos tratamentos na ausência de salinidade e na oxigenação de: $< 3,5$ (A, G); $\pm 5,5$ (B, H); $\pm 7,5$ (C, I) ppm de oxigênio dissolvido (OD), e na presença de salinidade (80 mM de NaCl) e na oxigenação de: $< 3,5$ (D, J); $\pm 5,5$ (E, K); $\pm 7,5$ (F, L) ppm de OD, corados com azul de toluidina e safranina. Epiderme (epi), exoderme (exo), esclerênquima (esc), córtex (cor), endoderme (end) e cilindro central (cc). As setas (\Rightarrow) indicam locais de coloração mais intensa. Barra de escala (■) = 100 μ m. ... 70
- Figura 21- Cortes transversais de raízes de plantas de arroz aos 15 dias após aplicação dos tratamentos na ausência de salinidade e na oxigenação de: $< 3,5$ (A, D); $\pm 5,5$ (B, E); $\pm 7,5$ (C, F) ppm de oxigênio dissolvido (OD) corados com azul de toluidina e safranina. Epiderme (epi), exoderme (exo), esclerênquima (esc), córtex (cor), endoderme (end) e cilindro central (cc). As setas (\Rightarrow) indicam locais de coloração mais intensa. Barra de escala (■) = 100 μ m. 71

LISTA DE TABELA

- Tabela 1- Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis número de perfilhos (N°PER), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca foliar (MSF), massa seca de raízes (MSR), área foliar (AF) e área foliar por perfilho (AFPE) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 40
- Tabela 2 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis comprimento da parte aérea (CPA); comprimento das raízes (CR); teor de clorofila a (Cfl_a), clorofila b (Cfl_b), clorofila total (Cfl_{total}) e carotenoides (CAR) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 40
- Tabela 3 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis taxa de assimilação líquida de carbono (*A*), condutância estomática (*g_s*), taxa de transpiração (*E*), concentração interna de CO₂ (*C_i*), eficiência de carboxilação (*A/C_i*) e eficiência instantânea do uso de água (*A/E*) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl), avaliadas aos 2, 6 e 10 DAT 42
- Tabela 4 – Resumo do quadro de ANOVA para os teores de Na⁺ e Cl⁻ nas raízes e folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113, submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 48
- Tabela 5 – Resumo do quadro de ANOVA para os teores de K⁺ e Ca²⁺ nas raízes e folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 50
- Tabela 6 – Resumo do quadro de ANOVA para sacarose nas folhas, e glicose e frutose nas raízes e folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)..... 52
- Tabela 7 – Resumo do quadro de ANOVA para os teores de proteínas e peroxidação lipídica (MDA) nas folhas e raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 53
- Tabela 8 – Resumo do quadro de ANOVA para as atividades enzimáticas da SOD e CAT nas folhas e da SOD e G-POD nas raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 54
- Tabela 9 – Resumo do quadro de ANOVA para a atividade enzimática da APX, os teores de ascorbato reduzido (AsA) e ascorbato total (AsA + MDHA + DHA) e estado redox do ascorbato nas folhas e raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 56

- Tabela 10 – Resumo do quadro de ANOVA para teor de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona total e estado redox da glutathiona nas folhas e raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 59
- Tabela 11 – Resumo do quadro de ANOVA para o teor de lignina nas raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) 61
- Tabela 12 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis conteúdo de água das folhas (CAF), teor de lignina nas raízes, área foliar (AF), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR) aos 5 e 10 dias da aplicação dos tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0 e 80 mM de NaCl) 62
- Tabela 13 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis área foliar (AF), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CMR), número de perfilhamento (N°PER), conteúdo de água das folhas (CAF) e teor de lignina nas raízes nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] em três tempos de coleta (5, 10 e 15 dias) 65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Arroz	18
2.1.1	<i>História e Cultivo</i>	18
2.1.2	<i>A cultivar de arroz SCSBRS 113</i>	20
2.2	Estresse salino	20
2.3	Estresse oxidativo e as espécies reativas de oxigênio	23
2.4	Oxigênio dissolvido	25
2.5	Hipóxia e salinidade em arroz	27
2.6	Histologia da raiz de arroz sob estresse abiótico	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	Material vegetal e condição experimental	29
3.2	Experimento I – Fase de perfilhamento	29
3.3	Experimento II - Fase de pré-perfilhamento	30
3.4	Caracterização dos tratamentos experimentais de oxigenação	31
3.5	Análise estatística	31
3.6	Métodos analíticos	32
3.6.1	<i>Massa seca e conteúdo de água das folhas (CAF)</i>	32
3.6.2	<i>Número de perfilhos e área Foliar</i>	32
3.6.3	<i>Comprimento da parte aérea e das raízes</i>	32
3.6.4	<i>Clorofila a, b, total e carotenoides</i>	32
3.6.5	<i>Trocas gasosas</i>	33
3.6.6	<i>Determinação dos teores dos íons Na⁺, K⁺ e Cl⁻</i>	33
3.6.7	<i>Determinação dos teores dos íons Ca²⁺</i>	34
3.6.8	<i>Determinação de proteínas solúveis</i>	34
3.6.9	<i>Teores de sacarose e monossacarídeos</i>	34
3.6.10	<i>Determinação de malondialdeído (MDA)</i>	35
3.6.11	<i>Atividade das enzimas antioxidantes</i>	35
3.6.11.1	<i>Atividade enzimática da Catalase</i>	35
3.6.11.2	<i>Atividade enzimática da peroxidase do ascorbato</i>	36
3.6.11.3	<i>Atividade enzimática da peroxidase do guaiacol</i>	36
3.6.11.4	<i>Atividade enzimática da dismutase do superóxido</i>	36
3.6.12	<i>Antioxidantes não enzimáticos</i>	37
3.6.12.1	<i>Glutationa reduzida e total, e estado redox</i>	37
3.6.12.2	<i>Ascorbato reduzido e total, e estado redox</i>	37
3.6.13	<i>Determinação do teor de lignina</i>	38

3.4.14	<i>Histoquímica de barreiras à ROL</i>	39
4	RESULTADOS	39
4.1	Experimento I – Fase de perfilamento	39
4.2	Experimento II - Fase de pré-perfilamento	61
5	DISCUSSÃO	71
5.1	Crescimento e desenvolvimento de arroz: estresse salino x hipóxia	72
5.2	Tolerância a salinidade segundo o estágio de desenvolvimento	74
5.3	Trocas gasosas e fotossíntese: salinidade x hipóxia	74
5.4	Disponibilidade de água e fluxo iônico: salinidade x hipóxia	78
5.5	Ação antioxidante: salinidade x hipóxia	82
5.6	Considerações finais	89
6	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

Estresse pode ser definido como qualquer alteração das condições ótimas para a vida de um ser vivo, capaz de induzir modificações em todos os seus níveis funcionais, limitar o seu desenvolvimento e reduzir suas possibilidades de sobrevivência, podendo o mesmo ser originado de fatores bióticos ou abióticos (LARCHER, 2000; TAIZ; ZEIGER; MØLLER, 2017). Os estresses abióticos podem ser ocasionados por inúmeros fatores, como metais pesados (SMEETS *et al.*, 2009), radiação ultravioleta (GAO; ZHANG, 2008), seca (SIMOVA-STOILOVA *et al.*, 2009), frio (VAN HEERDEN *et al.*, 2003, SITNICKA; ORZECOWSKI, 2014, LOUREIRO *et al.*, 2015), altas temperaturas (FERREIRA-SILVA, 2008), hipóxia do solo (LAMBERS *et al.*, 2008, PEREIRA *et al.*, 2014), salinidade (MARQUES *et al.*, 2011, MIRANDA *et al.*, 2016), dentre outros. Portanto, em qualquer lugar onde cresçam, as plantas estarão sujeitas a condições de estresses múltiplos que, por sua vez, poderão limitar seu crescimento e desenvolvimento (LARCHER, 2000).

A salinidade é o principal problema para a qualidade da água de irrigação, representando assim um risco à produtividade da cultura do arroz, já que ela está intimamente ligada à disponibilidade de água de boa qualidade (EMBRAPA, 2005). Assim, a melhoria da tolerância das plantas de arroz à água de baixa qualidade pode significar uma ampliação da disponibilidade hídrica e de novas terras para plantio, bem como a economia de recursos hídricos passíveis de serem destinados à população das cidades circunvizinhas aos rizicultores, acarretando ganhos produtivos, econômicos e sociais (CANTRELL, 2002; KASHENGE-KILLENGA *et al.*, 2014).

A ameaça de estresse abiótico nos cultivos é um fato global. Se por um lado a seca ameaça a produtividade das plantas em todos os continentes, por impor um desafio osmótico pela escassez de água e maior dureza do solo, as mudanças nos padrões climáticos têm trazido maior precipitação para algumas áreas (particularmente, as localizadas no norte da Europa), conduzindo à formação de solos alagados, os quais apresentam baixa concentração de oxigênio, condição denominada de hipóxia (KREUZWIESER; GESSLER, 2010; DURACK *et al.*, 2012; SHABALA *et al.*, 2014). Mais de 17 milhões de km² de terras (o dobro do tamanho dos EUA) são afetados por enchentes todos os anos, causando hipóxia, acarretando um prejuízo anual estimado em mais de 200 bilhões de reais (VOESENEK; SASIDHARAN, 2013).

O arroz, uma cultura de grande importância econômica, é um exemplo de planta adaptada a solos alagados. Entretanto, apesar da presença de aerênquimas, que permitem a difusão de oxigênio até as raízes em condições de hipóxia, o transporte de oxigênio pode não ser muito efetivo devido ao alto dispêndio atribuído ao custo metabólico para manter os estômatos abertos, às perdas de oxigênio para a rizosfera e ao aumento geral da demanda de

oxigênio para o processo de respiração sob hipóxia (LAMBERS *et al.*, 2008). Além disso, outros estresses a que as plantas estão sujeitas podem aumentar a demanda de oxigênio, como é o caso da salinidade do solo (BLOOM; EPSTEIN, 1984).

Assim, é relevante o entendimento de como o oxigênio em volta das raízes de plantas de arroz, sob estresse salino, influencia no crescimento e desenvolvimento vegetal, na barreira contra a perda radial de oxigênio pelas raízes, no metabolismo antioxidante e no sistema fotossintético. Isso permitirá um manejo que possa contribuir positivamente para o desenvolvimento das plantas de arroz e melhor conhecimento da interação dos mecanismos de tolerância à hipóxia e à salinidade. Portanto, há duas hipóteses a serem testadas: (1) A suplementação de oxigênio dissolvido na solução nutritiva, contribui para o melhor crescimento e desenvolvimento de plantas de arroz sob salinidade; (2) A barreira contra a perda radial de oxigênio (ROL) que é um mecanismo de tolerância à hipóxia contribui para maior tolerância à salinidade.

O objetivo geral deste trabalho foi testar as hipóteses supracitadas por analisar se a atenuação da hipóxia, pela suplementação de oxigênio em volta das raízes, contribui para melhor crescimento e desenvolvimento da planta de arroz, e se os mecanismos de tolerância a hipóxia contribuem para uma maior tolerância à salinidade, além de esclarecer especificamente o impacto da hipóxia e salinidade sobre os sistemas fotossintético e antioxidante com seus correspondentes efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento, e como alterações histoquímicas nas raízes sob hipóxia interagem com a permeabilidade de água e de íons como Na^+ e Cl^- .

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Arroz

2.1.1 História e Cultivo

A domesticação do arroz asiático (*Oryza sativa L.*) remonta de 1300 a 1000 anos a.C., segundo registros indianos, os quais relatam técnicas agrônômicas de cultivo do arroz (PEREIRA, 2002). O Brasil é o maior produtor de arroz fora do continente asiático, tendo seu cultivo evoluído bastante no Brasil desde sua chegada em 1587 na Bahia, com os portugueses (SILVA, 1950). O estado do Rio Grande do Sul é o que mais produz arroz no Brasil há mais de um século, contando, em 2016/2017, com uma área cultivada de 31,8 mil hectares, sendo responsável por 81,7% da produção brasileira (PEREIRA, 2002; COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2017).

A área cultivada com arroz representa 11% da terra arável do planeta e a produção alimenta quase metade da população mundial todos os dias, fornecendo a maior parte dos

recursos econômicos de milhões de habitações rurais de baixa renda (CANTRELL, 2002). É claramente reconhecível que nenhuma outra atividade econômica alimenta tantas pessoas, sustenta tantas famílias, é tão crucial para o desenvolvimento de muitas nações e pode apresentar grande impacto negativo no ambiente quanto a cultura do arroz.

Na região Nordeste, a produção de arroz alcançou na safra 2016/2017 o volume de 3.150 toneladas. Dentre os estados dessa região, o Maranhão se destaca com a participação de 1,8% da produção nacional. O Ceará é o quinto maior produtor do Nordeste com 0,1% da produção e 0,3% da área cultivada nacional. A região Centro-Sul do Ceará tem a maior produção de arroz do Estado, sendo o município de Iguatu o maior produtor; em segundo lugar vem à região de Baturité; e em terceiro a do Baixo Jaguaribe (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2017).

No Brasil, o arroz é cultivado em sistema de sequeiro e em solos inundados, em ambientes de baixa e alta temperatura e em muitos tipos de solo, sendo os parâmetros ambientais mais relevantes para a cultura o regime hídrico, a temperatura e o tipo de solo, incluindo textura, drenagem e topografia (EMBRAPA, 2005). Na Região Nordeste a cultura é realizada nos dois sistemas, sequeiro e irrigado. Mas essa cultura tem tido declínio nas áreas de sequeiro nos últimos anos e o último levantamento também indicou para uma redução da área irrigada, resultado da opção do produtor por culturas mais rentáveis (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2017). O manejo incorreto do cultivo pode gerar problemas ambientais como: solos contaminados com excesso de sais e redução da quantidade e qualidade da água em virtude de processos como assoreamento, salinização e eutrofização (SCARDACI *et al.*, 1996).

O cultivo de arroz tem elevada demanda hídrica. Sob condições de irrigação por submersão do solo são necessários em torno de 2000 L de água para produzir 1 kg de grãos com casca (EMBRAPA, 2005). Entretanto, apesar da disponibilidade hídrica ser uma questão chave para a produção de arroz, não menos importante é a qualidade da água para o seu cultivo. A importância da qualidade da água para a irrigação do arroz está diretamente relacionada à salinidade, a qual é avaliada pela condutividade elétrica (CE). Para o caso do cultivo do arroz, a água é classificada da seguinte forma: sem restrição ao uso, quando a CE é menor que 0,7 dS m⁻¹; com restrição ligeira ou moderada, quando a CE varia de 0,7 a 3,0 dS m⁻¹; e com restrição severa, quando a CE é maior que 3,0 dS m⁻¹ (EMBRAPA, 2005). Em concordância com essa classificação, Scardaci *et al.* (1996) observaram que, para valores de CE pouco maiores que 0,7 dS m⁻¹, a produtividade de arroz era reduzida. De modo geral, a cultura do arroz é considerada moderadamente tolerante à salinidade (LACERDA *et al.*, 2016)

2.1.2 A cultivar de arroz SCSBRS 113

A cultivar SCSBRS 113 (Tio Taka) foi lançada e registrada pela Epagri, em parceria com a Embrapa/CNPAF, em 2004. Também é conhecida pelos agricultores como “cultivar 113”. Esta cultivar se destaca pelo excelente potencial em produtividade, alta capacidade de perfilhamento, excelente qualidade de grãos, alto rendimento industrial e ciclo longo. Apresenta, também, elevada resistência ao acamamento, característica considerada essencial para uma cultivar que se destina ao sistema de cultivo com sementes pré-germinadas (VIEIRA; MARSCHALEK; SCHIOCCHET, 2007). De acordo com esses autores, as plantas dessa cultivar possuem uma altura em torno de 100 cm e um ciclo da emergência à colheita de 141 dias, o qual é considerado longo. Essa característica tem contribuído para sua preferência em locais de várzeas onde há possibilidade de um único ciclo de cultivo ao ano, tendo em vista a potencialização da produtividade e do lucro do agricultor.

A cultivar SCSBRS 113 foi desenvolvida em Santa Catarina, através do intercruzamento de dez variedades, subespécie *indica*, através do método de seleção recorrente (RANGEL; NEVES, 1997). Além da boa aceitação para cultivo nesse estado, é também bastante cultivada em outros estados brasileiros, inclusive no Ceará, bem como em diversos países da América Latina, tornando-se uma das cultivares mais plantadas (VIEIRA; MARSCHALEK; SCHIOCCHET, 2007).

2.2 Estresse salino

A salinidade induz uma série de respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas (WILLADINO; CÂMARA, 2005). Perdas de produção agrícola devidas a estresses abióticos, como a salinidade, são evidentes e têm sido bem documentadas (WANGA; FREI, 2011). A consciência do crescente impacto dos estresses ambientais tem levado diversos pesquisadores a buscarem uma adaptação ou pelo menos uma aclimação do cultivo agrícola às condições ambientais adversas (LOBELL *et al.*, 2008; ORTIZ *et al.*, 2008; WASSMANN *et al.*, 2009). E dentre os tipos de estresse abiótico, a salinidade é um dos mais devastadores, porque, na maioria, as plantas cultivadas são sensíveis ao estresse salino, tornando assim a salinidade o maior limitador abiótico da agricultura mundial (HASANUZZAMAN *et al.*, 2013; ACOSTA-MOTOS *et al.*, 2017).

A salinidade é um problema que afeta muitas áreas irrigadas, onde ocorrem acúmulos de sais pelo mau gerenciamento hídrico, bem como em regiões áridas ou semiáridas, onde as chuvas são insuficientes para lixiviar os sais da zona da raiz (ZHOU *et al.*, 2007). Segundo estimativas da FAO (do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*) aproximadamente 20% das áreas irrigadas no mundo, o que corresponde a 60 milhões

de hectares, sofre com altas concentrações de sais. Esse problema é alarmante, uma vez que cerca de 0,3 a 1,5 milhões de hectares de terras agricultáveis estão se tornando inutilizáveis a cada ano (FAO, 2015).

Os solos são considerados salinos quando possuem pH inferior a 8,5, percentagem de sódio trocável (PST) inferior a 15% e condutividade elétrica do extrato de saturação do solo (CE_{es}) entre a 4 e 7 $dS\ m^{-1}$. Já solos com CE_{es} acima de 7 $dS\ m^{-1}$ são considerados sálcos e letalmente tóxicos à maioria das plantas (RICHARDS, 1954; SCHNEIDER; SPERA, 2009). É importante destacar que o impacto das injúrias causadas pela salinidade do solo depende da espécie vegetal, do cultivar, do estágio de crescimento, dos fatores ambientais e da natureza do sal, o que significa, em si, um problema para se definir solos salinos com precisão (SHINOZAKI *et al.*, 2015; TANG *et al.*, 2015; TAIZ; ZEIGER; MØLLER, 2017).

Segundo Chinnusamy *et al.* (2005), a maioria das culturas agrícolas é afetada quando a CE_{es} é superior a 3,0 $dS\ m^{-1}$. Mas, para outros autores, isso ocorre quando a condutividade elétrica do extrato de saturação é igual ou superior a 2,0 $dS\ m^{-1}$ (HOLANDA *et al.*, 2010). Em arroz, por exemplo, solos com CE_{es} próxima de 3,5 $dS\ m^{-1}$ provocam uma redução de 10% na produtividade, enquanto que uma redução de 50 % é alcançada em CE_{es} por volta de 7,2 $dS\ m^{-1}$ (UMALI, 1993; ZENG *et al.*, 2001). Segundo Sultana *et al.* (1999), os valores totais de pigmentos fotossintéticos, açúcares e proteínas, em plantas de arroz, são reduzidos pela salinidade, sendo esse efeito agravado pelo tempo de exposição à salinidade.

Atualmente, em vista do alto impacto da salinidade no cultivo do arroz, o aumento da tolerância à salinização da água e do solo é um dos objetivos do melhoramento genético para obtenção de novas cultivares. Uma das vantagens dessa cultura é que ela possui uma grande variabilidade genética para a tolerância à salinidade, tendo vários de seus processos fisiológicos e bioquímicos afetados diferentemente pela salinidade, de acordo com a interação entre genótipo e o ambiente salino (SULTANA *et al.*, 1999; DE LEON *et al.*, 2015).

A salinidade afeta o crescimento dos vegetais basicamente por dois efeitos: o osmótico e o iônico (ASHRAF; FOOLAD, 2007). O efeito osmótico é resultante das elevadas concentrações de sais dissolvidos na solução do solo, o que leva à redução do potencial osmótico dessa solução, diminuindo, conseqüentemente, a disponibilidade de água para as plantas. Como resposta imediata ao déficit hídrico induzido pela salinidade, o crescimento da planta torna-se mais lento. Já o efeito iônico deve-se à absorção de íons tóxicos, principalmente Na^+ e Cl^- , que, em excesso, é prejudicial ao metabolismo celular (MUNNS, 2002; HORIE; SCHROEDER, 2004). A acumulação de íons nos tecidos (folhas velhas, por exemplo) por longos períodos pode causar injúrias e, eventualmente, a morte da planta. Isso se deve, provavelmente, à capacidade limitada das células em compartimentar os íons no vacúolo,

permitindo que suas concentrações no citosol aumentem rapidamente, afetando a atividade de várias enzimas (MUNNS, 2005; NATH *et al.*, 2016).

Além dos efeitos diretos da salinidade, há outros ditos indiretos que podem trazer prejuízos ao vegetal por afetar processos fisiológicos. O acúmulo excessivo de sais aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*), as quais são tóxicas para as células (CHINNUSAMY; JAGENDORF; ZHU, 2005). A salinidade pode provocar desequilíbrio nutricional, causado pelos distúrbios na absorção ou distribuição dos nutrientes. Por exemplo a salinidade pode atuar sobre o pH do solo elevando-o a ponto de reduzir a disponibilidade de nutrientes, tais como zinco, cobre, manganês, ferro e boro (YAHYA, 1998). Além disso, de acordo com Dias e Blanco (2010), a presença de sais de sódio tende a restringir a taxa de mineralização do nitrogênio (N), além de promover desoxigenação do solo por compacta-lo.

A redução no teor de clorofila observado em muitas culturas deve-se aos efeitos negativos da salinidade na síntese de clorofila e/ou na taxa de sua degradação, o que causa redução na capacidade fotossintética (REYNOLDS *et al.*, 2000; ARUNYANARK *et al.*, 2008). Segundo Lopes *et al.* (2012), sob condições de estresse osmótico, a correlação positiva entre a produtividade e o teor de clorofila torna-se mais forte. Portanto, isto sugere um papel crítico da clorofila no desempenho do crescimento sob condições de salinidade.

Vários mecanismos de proteção são ativados nas plantas em resposta a condições adversas de crescimento, como a salinidade. Muitos dos mecanismos de proteção à salinidade estão relacionados aos efeitos secundários, como por exemplo, o sistema de defesa antioxidante. Entretanto, o ajuste osmótico e o controle da entrada de íons constituem-se nos principais mecanismos fisiológicos para manutenção da turgescência celular e são interdependentes (MARIJUAN; BOSCH, 2013). Mas não dúvidas que os efeitos em conjunto destes mecanismos é que ditam o desempenho das plantas ao ambiente salino.

A necessidade de manutenção das concentrações iônicas adequadas aos requerimentos do metabolismo celular faz com que as células, sob condições salinas, ativem processos de compartimentação e exclusão de íons tóxicos. A tolerância das plantas à salinidade está relacionada, por exemplo, com a capacidade de impedir o transporte de Na^+ para a parte aérea e a manutenção do nível de K^+ nas raízes e folhas (CHEN *et al.*, 2007; CUIN *et al.*, 2008). Tais processos contribuem também para o ajustamento osmótico.

O ajuste osmótico confere proteção por curtos períodos de estresse e é importante quando as condições não tardam a se normalizar. Esse mecanismo se estabelece mediante o acúmulo, no vacúolo ou no citosol, de solutos compatíveis (prolina, glicina betaína, trealose, sacarose, poliaminas, manitol, pinitol, entre outros) que contribuem para a manutenção do

equilíbrio hídrico e a preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares (ASHRAF *et al.*, 2011; MARIJUAN; BOSCH, 2013). Esses solutos também têm função osmoprotetora contra subprodutos tóxicos do metabolismo, resultantes do estresse hídrico.

O manejo cultural adequado também pode contribuir muito para minimizar os efeitos da salinidade sobre a produtividade. Por exemplo, plantas de arroz sob estresse salino apresentam melhor desempenho em profundidades de lâminas de água de irrigação mais rasas (ou seja, <10 cm) do que em lâminas de água mais profundas (ou seja, > 10 cm), pois a capacidade de perfilhamento é menos inibida e o rendimento produtivo é maior (ZENG; LESCH; GRIEVE, 2003). Portanto, a produtividade do arroz está diretamente ligada a essa característica morfológica.

2.3 Estresse oxidativo e as espécies reativas de oxigênio

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio na relação entre os compostos antioxidantes e as ROS, quando em concentrações danosas às células (ZHU, 2002). As ROS mais comumente encontradas são o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os radicais superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) e hidroxil ($\text{HO}\bullet$) (MITTLER, 2017). Elas são consideradas subprodutos inevitáveis do metabolismo celular aeróbico e dos processos fotooxidativos (NOCTOR; FOYER, 1998) e são produzidas, principalmente, nas mitocôndrias, nos cloroplastos e nos peroxissomos (FOYER; NOCTOR, 2000, MØLLER, 2001, DEL RIO *et al.*, 2002, SANDALIO *et al.*, 2013, SINGH *et al.*, 2015).

As ROS, quando em altas concentrações, são moléculas tóxicas capazes de ocasionar danos aos diversos componentes das células, como DNA, lipídios de membrana e proteínas (APEL; HIRT, 2004, NATH *et al.*, 2016). Sob condições ótimas de crescimento, essas moléculas são mantidas em baixos níveis. Entretanto, sob condições adversas, como os estresses hídrico e salino, sua taxa de produção pode ser drasticamente aumentada (VAIDYANATHAN *et al.*, 2003; KAUR *et al.*, 2016).

Por outro lado, há diversos relatos da participação de ROS na sinalização celular, atuando assim como mensageiros secundários para a ativação de respostas aos estresses e em mecanismos de defesa (MITTLER, 2002; MITTLER *et al.*, 2004; CHOUDHURY *et al.*, 2013). Tendo em vista o papel das ROS nesses processos e por serem tóxicas em elevadas concentrações, as células vegetais possuem pelo menos dois mecanismos para regular suas concentrações intracelulares: um, por modulação fina, para manter seus níveis baixos e outro, para permitir a desintoxicação celular, especialmente em condições de estresse (MITTLER, 2002). Em função disso, as plantas desenvolveram mecanismos para manter a relação

produção/eliminação de ROS constante no interior das células (APEL; HIRT, 2004), utilizando para isso sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos (ASADA, 1999).

Nas plantas, o sistema de defesa enzimático ao estresse oxidativo é formado por enzimas como a catalase (CAT), a peroxidase do guaiacol (G-POD) e a dismutase do superóxido (SOD), bem como aquelas que participam do ciclo ascorbato-glutationa [peroxidase do ascorbato (APX), redutase da glutatona (GR), redutase do monodesidroascorbato (MDHAR) e redutase do desidroascorbato (DHAR)]. Essas enzimas trabalham de forma coordenada de modo que a SOD atua sobre o radical superóxido produzindo peróxido de hidrogênio, o qual pode ser eliminado subsequentemente pelas enzimas APX, CAT e G-POD (FOYER; NOCTOR, 2003). Além de enzimas com propriedades antioxidantes, as plantas contam ainda com antioxidantes não enzimáticos, como o ascorbato e a glutatona, os quais estão relacionados com a resistência ao estresse oxidativo em diferentes espécies.

Azevedo Neto *et al.* (2005), trabalhando com plantas de milho sob condições de estresse salino, mostraram que as atividades das principais enzimas do sistema de defesa ao estresse oxidativo aumentaram substancialmente no genótipo tolerante, em relação ao genótipo sensível, indicando que sob estresse, o mecanismo removedor de H_2O_2 é mais eficaz no genótipo tolerante. Além disso, esses autores afirmaram que a CAT era a enzima removedora de H_2O_2 mais importante nas folhas, enquanto a G-POD era a mais importante nas raízes e que a maior atividade destas enzimas e a aclimação das plantas à salinidade podem ser induzidas com o pré-tratamento com H_2O_2 em baixas concentrações na solução nutritiva.

Em plantas de milho, a produção de H_2O_2 também foi aumentada em resposta ao estresse de frio e sua aplicação exógena ao sistema radicular aumentou a tolerância do milho à diminuição de temperatura (PRASAD *et al.*, 1994). Gong *et al.* (2001), não só observaram que a aplicação de H_2O_2 é capaz de conferir tolerância ao frio, bem como a outros estresses abióticos, como o calor, a seca e a salinidade. Tais resultados sugerem que o H_2O_2 pode funcionar como molécula sinalizadora, iniciando o processo de tolerância cruzada (BOWLER; FLUHR, 2000).

Nas plantas, o H_2O_2 está envolvido nos processos de aclimação, defesa e desenvolvimento, sendo uma das ROS mais estáveis, o que justifica o fato de ser considerada como indicador de estresse oxidativo (SLESÁK *et al.*, 2007). O H_2O_2 pode atuar como uma molécula sinalizadora por ter uma meia-vida longa, quando comparada às de outras ROS, além de não ser um radical livre e não apresentar carga elétrica, diferentemente, por exemplo, de radical livre, como o $\bullet O_2^-$ (HALLIWELL, 2006). Dessa forma, o H_2O_2 é capaz de percorrer longas distâncias até o seu alvo, podendo assim atuar como uma molécula sinalizadora (VRANOVÁ *et al.*, 2002). Além disso, canais transportadores de água na membrana

plasmática, conhecidos como aquaporinas, podem facilitar o movimento de H_2O_2 transmembrantar (HENZLER; STEUDEL, 2000).

O H_2O_2 atua como regulador de vários processos fisiológicos, como o fortalecimento da parede celular, a senescência, a produção de fitoalexinas, a fotossíntese, a abertura estomática e o ciclo celular. Contudo, os efeitos biológicos dessa ROS mostram-se dependentes não apenas de sua concentração, mas também do seu sítio de produção, do estágio de desenvolvimento da planta e da prévia exposição da planta a outros tipos de estresse (PETROV; VAN BREUSEGEM, 2012). Em raízes de arroz sob condições de hipóxia, o H_2O_2 , assim como outras ROS, tem participação nos processos de ativação da formação de aerênquima lisígeno (YAMAUCHI; RAJHI; NAKAZONO, 2011).

Além do grande aumento na produção de H_2O_2 , outro indicador de estresse oxidativo é a lipoperoxidação ou peroxidação lipídica, definida como uma deterioração oxidativa de ácidos graxos poliinsaturados, presentes em grande quantidade nas membranas e nas organelas celulares (mitocôndrias e peroxissomos); é um processo constituído por reações encadeadas, sequenciais e que pode ser dividida em três etapas: iniciação, propagação e término. A peroxidação lipídica tem início quando ROS, dotadas de elétrons desemparelhados, promovem a remoção de hidrogênio de um grupo metileno ($-CH_2-$). Nesta etapa há a produção de um novo radical livre ($-CH\bullet-$), o qual, sob condições aeróbicas, combina-se com o oxigênio formando os radicais peroxila ($ROO\bullet$), que são capazes de extrair outro hidrogênio de outra molécula de lipídio, estabelecendo uma propagação da reação que é interrompida com a formação de peróxidos cíclicos e epóxidos, que culminam por fragmentar os lipídeos poli-insaturados, produzindo o malondialdeído (MDA ou 4-hidroxi-2-nonenal) (LLESUY, 2002). A intensidade da lipoperoxidação pode ser aferida através do malondialdeído (MDA), um intermediário do processo (CHIRICO, 1994).

2.4 Oxigênio dissolvido

O oxigênio molecular (O_2) dissolvido é considerado o agente oxidante mais importante das águas naturais (BAIRD, 2002). A concentração de oxigênio dissolvido (OD) na água é controlada por vários fatores, sendo um deles a solubilidade. Essa solubilidade, bem como a de outros gases apolares, possuindo interações intermoleculares fracas com água, é pequena devido à característica polar da molécula de água.

A presença de O_2 na água se deve, em parte, àquele proveniente do ar atmosférico ou da fotossíntese, o qual se dissolve na água, formando um equilíbrio $O_{2(g)} \leftrightarrow O_{2(aq)}$. Para o processo de dissolução do O_2 , a constante de equilíbrio da Lei de Henry (K_H) é definida como: $K_H = [O_{2(aq)}] / pO_2$, onde pO_2 é a pressão parcial do oxigênio atmosférico e termo o $[O_{2(aq)}]$ é a

concentração de O₂ dissolvido na água. O valor de K_H para o O₂ à temperatura de 25 °C é de $1,29 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ atm}^{-1}$. Ao nível do mar a pressão atmosférica é de 1 atm e a composição média em volume ou molar do ar seco é de 21% de O₂, assim pode-se estimar a pressão parcial do oxigênio como sendo 0,21 atm. Portanto, estima-se a solubilidade do O₂ em água, a 25 °C e no nível do mar, como sendo $2,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ou $8,6 \text{ mg L}^{-1}$. Esse valor apresenta uma concordância razoável com valores medidos de $8,11 \text{ mg L}^{-1}$ ao nível do mar (CONNELL, 1997).

Como a concentração de OD é proporcional à pO_2 , pode-se inferir que a uma dada temperatura a solubilidade do oxigênio na água decresce com o aumento da altitude, pois com o aumento da altitude há uma diminuição da pressão atmosférica e, conseqüentemente o oxigênio molecular sendo um dos componentes do ar, tem também sua pressão parcial reduzida. Entretanto, um fator mais importante que a altitude no controle da solubilidade do O₂ na água é a temperatura, uma vez que a solubilidade dos gases em água diminui com a elevação da temperatura; por exemplo, a quantidade de oxigênio que se dissolve a 0 °C ($14,2 \text{ mg L}^{-1}$ ou ppm) é mais do que o dobro da quantidade de OD a 35 °C ($7,0 \text{ mg L}^{-1}$) (CONNELL, 1997).

Segundo Agudo (1992), a concentração de saturação de oxigênio dissolvido em água em função da temperatura e da salinidade, revelou que à temperatura de 30 °C há uma variação de apenas 0,7 ppm, quando a concentração de NaCl varia de 0 a 10.000 mg/L, ou seja, de 0 a 171,11 mM. Embora seja praticamente insignificante, quando comparada à temperatura, a salinidade também influencia a capacidade da água em dissolver oxigênio. Assim, a quantidade de minerais ou a presença de elevadas concentrações de sais dissolvidos na água em decorrência de atividades potencialmente poluidoras podem, mesmo que em pequena intensidade, influenciar o teor de OD na água. Além da temperatura, da pressão e da salinidade, existem outros fatores bioquímicos e climáticos que também podem influenciar o teor de OD em água.

De acordo com Guimarães e Nour (2001), a concentração de O₂ solubilizado em água pode decrescer em função de seu consumo pela decomposição da matéria orgânica (oxidação), por perdas para a atmosfera, pelo processo de respiração de organismos aquáticos, por nitrificação e oxidação química abiótica de substâncias; pela presença dos íons metálicos de ferro (II) e manganês (II). Entretanto, esse consumo de oxigênio, em condições naturais, é compensado principalmente pelo oxigênio produzido na fotossíntese e pelo “reabastecimento” de oxigênio com a aeração da água através do fluxo da água em cursos de água e rios pouco profundos.

2.5 Hipóxia e salinidade em arroz

Em solos inundados, condições anóxicas (ausência de oxigênio) podem se formar localmente já que a difusão de gases na água é, aproximadamente, 1000 vezes mais lenta que no ar (LAMBERS *et al.*, 2008). Nesse caso, condições insuficientes de oxigênio para a respiração induzem processos fermentativos nos vegetais. Esta rota alternativa para produção de ATP é mais dispendiosa em vista de seu baixo rendimento energético. Os tecidos vegetais geram energia na glicólise produzindo etanol e, às vezes, lactato. Normalmente a produção de lactato se dá logo após a privação celular de oxigênio (LAMBERS *et al.*, 2008). O acúmulo de lactato baixa o pH do citosol, inibe a desidrogenase do lactato e a descarboxilase do piruvato; e, conseqüentemente, os processos de fermentação láctica e alcóolica. Quando o acúmulo de lactato não é interrompido ocorre grande acidificação do citosol e isto pode causar a morte celular (RIVOAL; HANSON, 1994). Por outro lado, o acúmulo de etanol não inibe o crescimento das plantas, pelo menos em concentrações que não superem aquelas normalmente encontradas em plantas alagadas. Assim, o etanol não desempenha um importante papel na lesão vegetal por inundações (JACKSON *et al.*, 1982).

Muitas espécies típicas de lugares sujeitos a alagamentos, incluindo as cultivadas, como o arroz (*Oryza sativa* L.), apresentam mecanismos envolvidos em prevenir problemas associados com solos inundados. Nessas plantas, a formação do aerênquima contribui para suprir as raízes com o oxigênio que vem da parte aérea, além facilitar a difusão dos gases CO₂ e metano das raízes para a parte aérea (COLMER, 2003b; EVANS, 2003). O aerênquima é um tecido que forma um contínuo sistema de espaços de ar na planta que difunde oxigênio, ou outros gases, da parte aérea para as raízes, ou vice-versa (JACKSON; ARMSTRONG, 1999). Assim, o aerênquima pode proporcionar benefícios aos processos fotossintéticos, ao transportar o CO₂, produzido pela respiração, das raízes, para os espaços intercelulares de folhas, aumentando assim a concentração de CO₂ disponível para a fotossíntese, conforme observado em algumas espécies de plantas do pantanal, o qual é um bioma de planícies alagadas constituídas principalmente por uma savana estépica (CONSTABLE; LONGSTRETH, 1994). Geralmente, a indução da formação de aerênquima leva 24 a 72 horas após o início das condições anaeróbicas (MALIK *et al.*, 2003; HAQUE *et al.*, 2010; RAJHI *et al.*, 2011).

Por causa do gradiente de pressão parcial dentro do aerênquima, o oxigênio move-se por difusão para interior das raízes e esse transporte de oxigênio é frequentemente maior que o consumido pela respiração nestes órgãos. Entretanto, a difusão do oxigênio para a rizosfera implica em perda de oxigênio útil para a respiração radicular. Algumas plantas adaptadas a condições de inundação, como a *Oryza sativa* L., a *Phragmites australis* e a *Glyceria maxima*,

desenvolveram barreiras nas zonas basais das raízes capazes de reduzir as perdas radiais de oxigênio (ROL, do inglês *radial O₂ loss*) nas raízes (COLMER, 2003a; SOUKUP *et al.*, 2007).

O aerênquima e a introdução de barreiras à ROL não são absolutamente benéficos às plantas. Raízes com aerênquima apresentam caracteristicamente um diâmetro largo e pequena área de superfície por unidade de biomassa. Por isso, a nutrição vegetal é bastante afetada. A presença de barreiras basais contra a ROL, provavelmente também diminui a capacidade de absorção de água e nutrientes, mesmo aumentando a difusão longitudinal de O₂ através dos aerênquimas em direção ao ápice da raiz, diminuindo as perdas de O₂ para a rizosfera, e permitindo assim maior alongamento em substratos anaeróbicos (ARMSTRONG, 1979; SOUKUP *et al.*, 2007; LAMBERS *et al.*, 2008). Entretanto, um estudo demonstrou que a formação inicial de barreiras apoplásticas na endoderme e exoderme de raízes de arroz em solo inundado não afeta significativamente a condutividade hidráulica, apesar de reduzir o fluxo de Na⁺ (RANATHUNGE *et al.*, 2011).

A exposição de plantas sensíveis à salinidade ou a estresse hídrico muitas vezes aumenta a sua respiração. Por exemplo, a respiração radicular de plantas de cevada aumenta quando exposta ao NaCl a 100 mM (BLOOM; EPSTEIN, 1984), sendo isso um reflexo do aumento da demanda energética ou de um aumento da atividade de caminhos alternativos à respiração aeróbica. Em plantas de trigo expostas à salinidade, o declínio na respiração radicular pode ser explicado pela falta de açúcar devido ao acúmulo de solutos osmóticos (LAMBERS *et al.*, 2008). Portanto, manejos culturais capazes de dar suporte ao crescimento e desenvolvimento, sob condições adversas, e a indução de processos de defesa, desencadeados normalmente pelo estresse salino, podem conjuntamente conferir ou maximizar a tolerância intrínseca de uma variedade.

2.6 Histologia da raiz de arroz sob estresse abiótico

No arroz, a parte exterior da raiz bem desenvolvida é constituída por quatro camadas de células: epiderme, exoderme, esclerênquima e córtex, ordenadas nesta sequência de fora para dentro da raiz (RANATHUNGE; STEUDLE; LAFITTE, 2003).

A mais importante adaptação para solos alagados é o desenvolvimento de um aerênquima funcional assim como em outras espécies de solos alagados (RANATHUNGE *et al.*, 2011). Em arroz, o aerênquima é do tipo lisígeno, ou seja, formado pela morte e subsequente lise de algumas células do córtex (JACKSON; FENNING; JENKINS, 1985). A formação do aerênquima é iniciada no ápice radicular e expande-se gradualmente para as partes basais das raízes (RANATHUNGE *et al.*, 2003). Durante a formação do aerênquima nas raízes de arroz,

a morte celular começa nas células do meio do córtex e, em seguida, espalha-se radialmente para as células corticais vizinhas (KAWAI *et al.*, 1998).

O arroz apresenta ainda em suas raízes barreiras à ROL relacionadas à suberificação e/ou a lignificação nas camadas periféricas das raízes (DE SIMONE *et al.*, 2003; SOUKUP *et al.*, 2007), de modo que o esclerênquima ou a endoderme suberizadas e/ou esclerênquima lignificadas podem agir como barreiras à ROL (KOTULA *et al.*, 2009).

Em uma comparação histoquímica de raízes em solução nutritiva aerada e estagnada de oxigênio, os autores Ranathunge *et al.* (2011) observaram uma deposição similar de suberina na fileira de células mais internas da endoderme formando parede celular terciária em forma de “U”, e, que a deposição de lignina nas células do esclerênquima foi mais precoce e intensa nas plantas em solução estagnada de oxigênio.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e condição experimental

A planta em estudo foi o arroz cv. SCSBRS 113, cultivada no sul do estado do Ceará. As sementes foram obtidas através de produtores da cidade de Iguatu-CE, os quais recebem assistência técnica da Ematerce e da Epagri. Foi realizada uma análise de germinação das sementes obtidas, atestando que essas sementes apresentavam ótima qualidade.

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular e no Laboratório de Biologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A pesquisa foi realizada em câmara de germinação tipo B.O.D. à temperatura de 30°C e umidade relativa maior que 90% dia e noite, e fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, bem como em casa de vegetação, onde as temperaturas diurnas foram próximas de 35°C e o fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, típico da zona equatorial.

Após a produção das mudas realizada em B.O.D, as plantas de arroz foram cultivadas em sistema hidropônico com solução nutritiva de Clark (1975) modificada, contendo a seguinte composição: NH₄ (0,9 mM), NO₃ (6,9 mM) P (0,069 mM), K (1,8 mM), Ca (2,6 mM), Mg (0,6 mM), S (0,5 mM), Cl (0,5 mM), Mn (0,007 mM), Mo (0,0006 mM), B (0,019 mM), Zn (0,002 mM), Cu (0,0005 mM), Fe – EDTA (0,076 mM).

3.2 Experimento I – Fase de perfilhamento

Este experimento teve por objetivo analisar se a atenuação da hipóxia, pela suplementação com oxigênio na rizosfera, contribui para melhor crescimento e desenvolvimento da planta de arroz e se os mecanismos de tolerância a hipóxia contribuem para uma maior tolerância à salinidade. Desta forma, o arroz foi semeado em substrato de papel

“germitest” umedecido com água destilada e colocado para germinar em B.O.D. até que o coleótilo atingisse o tamanho de aproximadamente 5 cm (± 10 dias). As plântulas foram transferidas para um suporte de isopor disposto sobre bacias contendo solução nutritiva. As raízes das plântulas ficaram completamente submersas em solução nutritiva por 20 dias para crescerem sob as condições experimentais de casa de vegetação. No trigésimo dia, os tratamentos de oxigenação radicular e de salinidade foram aplicados durante 10 dias. A partir do trigésimo segundo dia de semeadura, o monitoramento de trocas gasosas através do analisador de gás no infravermelho – IRGA modelo LI-6400 (LI-COR Inc., CA, EUA), foi realizado três vezes em intervalos de quatro dias. As análises de crescimento (comprimento e massa seca da parte aérea e da raiz), os teores de H_2O_2 e de MDA, e as atividades enzimáticas das principais enzimas do sistema antioxidante foram realizadas a partir da coleta das plantas com 40 dias após a semeadura.

O experimento foi arranjado em esquema fatorial 3 x 3, com delineamento inteiramente casualizado. O primeiro fator constou de três condições diferentes de oxigenação radicular e o segundo fator de três níveis de NaCl aplicadas na solução nutritiva. As condições de oxigenação do sistema em solução nutritiva radicular foram: OD < 3,5 ppm (baixa oxigenação); OD = $\pm 5,5$ ppm (condição controle); OD = $\pm 7,5$ ppm (alta oxigenação). As doses de NaCl empregadas foram: 0, 40 e 80 mM de NaCl. A solução nutritiva apresentou uma condutividade elétrica (CE) de $\pm 1,5$ dS m^{-1} na ausência de NaCl (controle) e $\pm 4,5$ e $\pm 6,5$ dS m^{-1} em presença de 40 e 80 mM de NaCl, respectivamente. Cada tratamento teve quatro repetições, com cada repetição compostas por três plantas.

Neste experimento foram desenvolvidas determinações de massa seca de parte aérea e raízes, número de perfilhos, área foliar, comprimento de parte aérea e raízes, e teores de clorofila a e b, carotenóides, íons (Na^+ , Cl^- , K^+ e Ca^{2+}), proteínas, sacarose, monossacarídeos, malondialdeído, glutatona, ascorbato e lignina, além da atividade enzimática de CAT, SOD, APX, G-POD e análises de trocas gasosas.

3.3 Experimento II - Fase de pré-perfilhamento

Este experimento teve por objetivo avaliar a formação das barreiras à ROL e medidas de crescimento. As sementes de arroz foram postas para germinar em câmara tipo B.O.D. e após 10 dias foram transferidas para casa de vegetação, onde ficaram por 2 dias até que, no décimo segundo dia após a semeadura, os tratamentos de oxigenação radicular e de salinidade foram aplicados durante 15 dias. As condições experimentais foram semelhantes às descritas no item 3.2.

O experimento foi arranjado em esquema fatorial 3 x 2 x 3, com delineamento inteiramente casualizado. O primeiro fator corresponde a três condições diferentes de oxigenação radicular, o segundo fator a duas doses de NaCl aplicadas na solução nutritiva e terceiro fator a três tempos de coleta. As condições de oxigenação radicular foram similares as do experimento I (item 3.2) e as doses de NaCl foram 0 e 80 mM de NaCl. As coletas foram realizadas aos 5, 10 e 15 dias da aplicação dos tratamentos (DAT) e cada tratamento teve quatro repetições composta de três plantas.

Neste experimento foram desenvolvidas determinações do conteúdo de água nas folhas, área foliar, comprimento de parte aérea e raízes, e teor de lignina nas raízes, além das análises histoquímicas para visualização da barreira contra perda radial de oxigênio.

3.4 Caracterização dos tratamentos experimentais de oxigenação

Nas condições experimentais estabelecidas, a solução nutritiva continha $\pm 5,5$ ppm de OD. Assim, para que o tratamento com $\pm 7,5$ ppm de OD fosse estabelecido, foi realizada uma aeração com bombas de aquário na proporção de uma bomba para cada 6 L de solução nutritiva. Para que houvesse a remoção de parte do oxigênio dissolvido na solução nutritiva a fim de estabelecer condições com OD $< 3,5$ ppm, foram adicionados 0,4 mL de metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ a 1 M) por cada litro da solução nutritiva todos os dias. Nesta condição, a solução teve o OD $< 3,5$ ppm, com variação de 0 a 3,4 ppm de OD durante as 12 primeiras horas de aplicação e a variação de pH foi de 5,8 a 4,0 nas 6 primeiras horas. Entretanto, o OD foi mantido menor que 3,5 ppm e o pH foi mantido a 5,8, com correção de pH realizada com KOH 1 M, por 24 h. A cada dois dias a solução nutritiva foi trocada.

Para que os efeitos das condições de oxigenação radicular não fossem confundidos com os possíveis efeitos residuais do $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, todos os tratamentos tiveram a aplicação de metabissulfito de sódio 1 M na mesma proporção dos tratamentos com baixa oxigenação. Entretanto, esta aplicação foi prévia à formulação e troca das soluções nutritivas para que não houvesse nenhum efeito sobre o OD quando esta fosse usada. A aplicação prévia ocorreu sempre dois dias antes do eventual uso das soluções nas trocas de soluções nutritivas.

3.5 Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos a um teste de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) antes de serem submetidos à análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi aplicado para as variáveis com teste F significativo a 5%. O software utilizado para a análise estatística foi o Sisvar (FERREIRA, 2011).

3.6 Métodos analíticos

3.6.1 *Massa seca e conteúdo de água das folhas (CAF)*

Durante as coletas, as plantas de arroz foram divididas em amostras de colmo, folhas e raízes, as quais foram congeladas a -80°C e posteriormente liofilizadas. Após a completa secagem as amostras foram pesadas em balanças de precisão para determinação da massa seca da parte aérea, das raízes e das folhas. A partir da diferença entre a massa fresca e a massa seca da totalidade das folhas de cada planta pode-se calcular o conteúdo de água das folhas. Os valores de massa seca foram expressos em gramas por planta (g planta^{-1}) e os valores de CAF foram expressos em miligramas de água por planta ($\text{mg H}_2\text{O planta}^{-1}$).

3.6.2 *Número de perfilhos e área Foliar*

Ao fim do experimento II o número de perfilhos foi contabilizado, e as folhas de cada perfilho das plantas de arroz foram coletadas para medição da área foliar (AF) por planta e por perfilho, através de um medidor de área modelo LI-3100 (Li-Cor., Inc, Lincoln, Nebraska, USA). A área foliar foi $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ e $\text{cm}^2 \text{ perfilho}^{-1}$.

3.6.3 *Comprimento da parte aérea e das raízes*

Os comprimentos da parte aérea e das raízes foram medidos com fita métrica. No caso da parte aérea, cada perfilho foi medido e a média do somatório dessas medidas foi usada como valor de comprimento, enquanto que a medida de comprimento das raízes foi a referente a média das medidas das maiores raízes das plantas que compunham a repetição. Os comprimentos foram expressos em centímetros.

3.6.4 *Clorofila a, b, total e carotenoides*

Os teores de clorofila e dos carotenoides foram determinados através do método descrito por Wellburn (1994). Três discos foliares de 1 cm de diâmetro foram retirados da primeira folha de arroz completamente expandida no momento da coleta (aproximadamente 0,05 g de material seco). Os discos foram colocados em tubos de ensaio (protegidos da luz), contendo 2 mL da solução de extração (dimetilsulfóxido saturada com CaCO_3). Após 72 h, as amostras foram incubadas a 65°C em banho-maria por 45 min e a absorbância dos sobrenadantes foi mensurada nos seguintes comprimentos de onda: 665, 649 e 480 nm. Como branco foi usado a solução de extração. As concentrações de $\text{Clf } a$, $\text{Clf } b$, $\text{Clf } total$ e carotenoides, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, foram estimadas através de fórmulas: $\text{Clf } a = 12,47 A_{665} - 3,62 A_{649}$; $\text{Clf } b = 25,06 A_{649} - 6,50 A_{665}$; $\text{Clf } total = 7,15 A_{665} + 18,71 A_{649}$; Carotenoides = $(1000 A_{480} - 1,29 \text{ Clf } a - 53,78$

Cl_f) /220 e posteriormente as concentrações foram calculadas em $mg\ g^{-1}$ de massa seca (MS), utilizando a massa dos secas dos discos foliares similares aos usados na extração.

3.6.5 Trocas gasosas

No experimento I, as trocas gasosas foram avaliadas com um analisador de gás no infravermelho – IRGA modelo LI-6400 (LI-COR Inc., CA, EUA). As avaliações foram realizadas a cada três dias a partir do trigésimo segundo dia após a semeadura, sendo assim foram realizadas três avaliações. A cada avaliação foi mensurada a fotossíntese líquida (A), a condutância estomática (g_s), a transpiração foliar (E), a concentração interna de CO_2 (C_i). Também foi calculada, para cada tempo de avaliação, a eficiência instantânea do uso de água pela relação entre a fotossíntese líquida e a transpiração foliar (A/E) e a relação da concentração de CO_2 interna e externa (C_i/C_a). No momento das mensurações, a temperatura da câmara foi mantida a $30^\circ C$, a concentração de CO_2 externa (referência) foi mantida a 400 ppm e a densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (PPFD) na folha foi mantida em $1200\ \mu mol\ fótons\ m^{-2}\ s^{-1}$. As medidas foram realizadas na parte mediana da primeira folha plenamente expandida do perfilho matriz.

3.6.6 Determinação dos teores dos íons Na^+ , K^+ e Cl^-

Para a determinação dos teores dos íons inorgânicos, 40 mg do material vegetal liofilizado e macerado de folhas e raízes foram homogeneizados, separadamente, com 4 mL de água desionizada. Os homogenatos foram mantidos em banho-maria à temperatura de $95^\circ C$, durante 1 h, com agitações a cada 20 min. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas a $3.000\ x\ g$ por 10 min, à temperatura ambiente (SARRUGE; HAAG, 1974).

Os teores de Na^+ e K^+ foram determinados segundo Malavolta *et al.* (1989), com o auxílio de um fotômetro de chama [Micronal, modelo B462 (São Paulo/SP, Brasil)]. As concentrações de Na^+ e K^+ foram calculadas por meio de uma curva padrão feita com NaCl e KCl, respectivamente.

O teor de Cl^- foi determinado segundo o método colorimétrico de Gaines, Parker e Gascho (1984) com auxílio de um espectrômetro ajustado à 460 nm. A reação de determinação foi realizada com 1 mL de extrato bruto, convenientemente diluído, e 167 μL de $Hg(SCN)_2$ (13,2 M) / $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ (20,2%) (4:1). As leituras de absorvância foram convertidas em concentração de Cl^- usando uma curva padrão feita com NaCl. Os teores iônicos foram expressos em $mol\ g^{-1}\ MS$.

3.6.7 Determinação dos teores dos íons Ca^{2+}

A extração de Ca^{2+} foi realizada segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). Em tubos de digestão, foram adicionados 0,5 g do material vegetal, liofilizado e macerado de folhas e raízes, e 6 mL da mistura das soluções de ácido nítrico (HNO_3) e ácido perclórico (HClO_4), na proporção de 2:1 (v/v). Os tubos foram colocados no bloco digestor [modelo MA 4025, Marconi® (Piracicaba, SP, Brasil)], cuja temperatura foi gradativamente elevada até 160°C , até o volume ser reduzido à metade. Alcançada essa situação, a temperatura foi então aumentada para 250°C , na qual os tubos foram mantidos até o extrato tornar-se incolor e sem resquícios de material não digerido. Após os tubos retornarem à temperatura ambiente, o volume foi aferido para 50 mL com água desionizada, em balão volumétrico. Os teores de Ca^{2+} foram determinados com o auxílio de um fotômetro de chama [Micronal, modelo B462 (São Paulo/SP, Brasil)] e da equação da curva padrão confeccionada com CaCl_2 . O teor do íon cálcio foi expresso em mg g^{-1} MS.

3.6.8 Determinação de proteínas solúveis

A extração do material proteico foi realizada através da maceração de 0,5 g de material vegetal liofilizado de folhas e raízes com auxílio de nitrogênio líquido e 10 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M c/ EDTA 0,1 mM (pH 7,0), a 4°C , em almofariz de porcelana acondicionado em bloco de gelo. Após 5 minutos de maceração, o homogenato foi filtrado em tecido de náilon de malha fina e transferido para tubos Eppendorf de 1,5mL e centrifugado a $12000 \times g$ durante 15 min a 4°C . O sobrenadante foi armazenado em ultrafreezer, a -80°C .

As proteínas solúveis foram quantificadas pelo método de Bradford (1976). A mistura analítica foi de 200 μL do reagente de Bradford adicionado a 20 μL do extrato convenientemente diluído. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ M, BioTek) regulado no comprimento de onda de 595 nm. Como padrão, foi utilizada albumina de soro bovino (BSA). Os resultados foram expressos em mg g^{-1} MS.

3.6.9 Teores de sacarose e monossacarídeos

Os carboidratos solúveis totais, nos quais estão presentes os monossacarídeos (frutose e glicose) e o dissacarídeo (sacarose), foram extraídos de acordo com a metodologia descrita por Rinne *et al.* (2012), modificada. O material vegetal macerado de folhas e de raízes foi homogeneizado, separadamente, com água ultrapura Milli-Q® por meio de vigorosa agitação em vórtex. Em seguida, os tubos contendo o homogenato foram colocados em banho ultrassônico, durante 30 min e, logo após, incubados em banho-maria a 85°C , por 30 min.

Transcorrido esse tempo, as amostras foram deixadas à temperatura ambiente, por 30 min, para resfriamento e, em seguida, centrifugadas a 10.000 x g, por 3 min. Ao final do processo, os sobrenadantes foram filtrados por meio de membrana de politetrafluoretileno (PTFE), com poro de 0,2 µm de diâmetro, e armazenados sob refrigeração a -20° C.

A separação e a análise dos açúcares foram realizadas através de cromatografia líquida de alta performance (HPLC, Shimadzu, Japão) em coluna de fase reversa e injetor automático (mod. SIL-20A, Shimadzu). A separação de glicose e frutose foi realizada em coluna cromatográfica SUECO Ca, por meio de um gradiente contendo somente água ultrapura Milli-Q®, a 85 °C, com fluxo de 0,5 mL/min, por 25 min. A separação de sacarose foi realizada em coluna cromatográfica apHera™ NH₂ Polymer (5 µm), por um gradiente contendo água (25%) e acetonitrila (75%), a 30°C, com fluxo de 0,6 mL/min, por 15 min. Uma alíquota de 20 µL de cada amostra foi injetada e os picos foram detectados por um refratômetro acoplado ao HPLC. As áreas dos picos foram integradas e os açúcares quantificados após comparação com uma curva padrão previamente construída a partir de concentrações crescentes de padrões de D-frutose, D-glicose e sacarose (Sigma Aldrich). Os resultados dos teores de açúcares foram expressos em µmol g⁻¹ MS.

3.6.10 Determinação de malondialdeído (MDA)

Os teores de MDA foram determinados seguindo o método de Jambunathan (2010). Para a determinação de MDA, 250 µl de extrato (o mesmo usado para determinação de proteína solúveis, conforme descrito no *item 3.6.9*) foram adicionados a 250 µl de água e 500 µl da solução TBA-TCA [ácido tricloroacético (TCA) 20% em ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5%]. A mistura foi aquecida por 30 min a 95°C e centrifugada a 3000 x g, durante 10 min. A quantificação de MDA foi realizada a partir da diferença das leituras de absorvância não-específica (600 nm) da específica (532 nm), realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Mx, BioTek), usando o coeficiente de extinção molar do MDA (15,6 mM⁻¹ cm⁻¹). Os resultados foram expressos em nmol g⁻¹ MS.

3.6.11 Atividade das enzimas antioxidantes

O extrato utilizado para a determinação das atividades de enzimas antioxidantes foi o mesmo para detecção de proteínas solúveis, conforme descrito no *item 3.6.9*.

3.6.11.1 Atividade enzimática da Catalase

A atividade da catalase (CAT; CE 1.11.1.6) foi medida de acordo com Beers e Sizer (1952), com modificações. O meio de reação foi constituído de 210 µL de tampão fosfato de potássio a 0,1 M, contendo EDTA a 0,1 mM (pH 7,0) a 30°C, foram adicionados de 20 µL de

H₂O₂ a 0,5 M e 20 µL do extrato proteico. A atividade da CAT foi determinada por meio do consumo do H₂O₂, sendo mensurada a partir do decaimento das leituras de absorbância a 240 nm realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Mx, BioTek) durante 300 s, com leituras sucessivas em intervalos de 50 s. A atividade da enzima foi calculada com base no coeficiente de extinção molar do H₂O₂ (36 M⁻¹ cm⁻¹). Os resultados foram expressos em µmol H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ de proteína.

3.6.11.2 Atividade enzimática da peroxidase do ascorbato

A atividade da peroxidase do ascorbato (APX; EC 1.11.1.1) foi determinada de acordo com Nakano e Asada (1981). O meio de reação foi constituído de 160 µL de tampão fosfato de potássio a 50 mM, contendo EDTA a 50 µM (pH 6,0) a 30°C, foram adicionados de 20 µL do extrato proteico, 10 µL de H₂O₂ a 30 mM e 10 µL de ácido ascórbico a 15 mM. A atividade da APX foi determinada por meio da oxidação do ascorbato, sendo mensurada a partir do decaimento das leituras de absorbância a 290 nm realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Mx, BioTek) durante 300 s, com leituras sucessivas em intervalos de 50 s. A atividade da enzima foi calculada com base no coeficiente de extinção molar do ascorbato (2,8 mM⁻¹ cm⁻¹). Os resultados foram expressos em µmol H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ de proteína, considerando a relação de 2 moles de ascorbato para 1 mol de H₂O₂.

3.6.11.3 Atividade enzimática da peroxidase do guaiacol

A atividade da peroxidase do guaiacol (G-POD; EC 1.11.1.7) foi determinada tal como descrito por Urbanek *et al.* (1991). O meio de reação foi constituído de 90 µL de tampão fosfato de potássio a 0,1 M, contendo EDTA a 0,1 mM (pH 7,0) a 30°C, foram adicionados 50 µL de guaiacol a 0,02 M, 50 µL de H₂O₂ a 0,06 M e 10 µL do extrato proteico. A atividade da G-POD foi determinada por meio da formação de tetraguaiacol a partir da oxidação do guaiacol, sendo mensurada a partir do aumento das leituras de absorbância a 470 nm realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Mx, BioTek) durante 300 s, com leituras sucessivas em intervalos de 50 s. A atividade da enzima foi calculada com base no coeficiente de extinção molar do tetraguaiacol (26,6 mM⁻¹ cm⁻¹), considerando a relação de formação de um mol de tetraguaiacol para o consumo de quatro moles de H₂O₂. Os resultados foram expressos em que corresponde mmol H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ de proteína.

3.6.11.4 Atividade enzimática da dismutase do superóxido

A atividade da dismutase do superóxido (SOD; EC 1.15.1.1) foi determinada medindo a sua capacidade para inibir a redução fotoquímica do azul de nitrotetrazólio (NBT), como descrito por Giannopolitis e Ries (1977). O meio de reação foi constituído de 165 µL de tampão fosfato de potássio a 0,05 M (pH 7,8), contendo EDTA a 0,1 mM e metionina a 19,5

mM, foram adicionados 10 μL do extrato proteico, 25 μL de NBT a 750 μM e 50 μL de riboflavina a 10 μM . A reação foi conduzida a 25°C numa câmara iluminada com duas lâmpadas fluorescentes de 20 W, por 15 min. Os resultados foram expressos em U g^{-1} de proteína. Uma unidade de atividade da SOD (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para causar uma inibição de 50% na taxa de fotorredução do NBT nesse tempo de reação, sendo as leituras de absorvância realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Max, BioTek) regulado no comprimento de onda de 560 nm (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

3.6.12 Antioxidantes não enzimáticos

O extrato utilizado para a determinação dos teores de antioxidantes não enzimáticos foi o mesmo para detecção de proteínas solúveis, conforme descrito no *item 3.6.9*.

3.6.12.1 Glutaciona reduzida e total, e estado redox

O meio de reação para a determinação do glutaciona reduzida (GSH) foi constituído de: 10 μL de extrato proteico e 130 μL de tampão fosfato de sódio a 150 mM, pH 7,4, EDTA 6,3 mM, o qual foi incubado a 30°C por 10 min antes de ser acrescido de 10 μL de 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) a 6 mM (em solução tampão fosfato de potássio a 150 mM (pH 7,4) com EDTA 6,3 mM). A mistura foi agitada e incubada a 30°C por 15 min antes da leitura ser realizada. Para a determinação de glutaciona total [GSH + glutaciona oxidada (GSSG)], a GSSG presente foi inicialmente reduzida a GSH pela ação da enzima redutase da glutaciona (GR). Para isso, a 10 μL de extrato foram adicionados a 130 μL de tampão fosfato de sódio a 150 mM (pH 7,4) com EDTA 6,3 mM, 1 U mL^{-1} de GR e NADPH a 0,3 mM, incubado a 30°C por 10 min antes de ser acrescido de 10 μL de 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) a 6 mM (em solução tampão fosfato de potássio a 150 mM (pH 7,4) com EDTA a 6,3 mM). A mistura foi agitada e incubada a 30°C por 15 min antes da leitura ser realizada. Os teores de GSH e glutaciona total foram mensurados a partir de leituras de absorvância a 412 nm realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Mx, BioTek) O cálculo dos teores de GSH e glutaciona total foram realizados mediante a curva de padrão de glutaciona (GRIFFITH, 1980). O estado redox do ascorbato foi determinado pela razão entre o GSH e glutaciona total. Os teores de GSH e glutaciona total foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS.

3.6.12.2 Ascorbato reduzido e total, e estado redox

O meio de reação para a determinação do ascorbato reduzido (AsA) foi constituído de: 10 μL de extrato proteico; 30 μL de tampão fosfato de potássio a 150 mM (pH 7,4) com EDTA 6,3 mM; 20 μL de água desionizada; 40 μL de TCA 10%; 40 μL de H_2PO_4 44%; 40 μL

bipiridil 4%; 20 µL de FeCl₃ 3%. A mistura foi agitada por 10 min a 37 °C e depois ficou em repouso por 50 min na mesma temperatura antes de proceder com a leitura espectrofotométrica. Já o meio de reação para a determinação do ascorbato total [AsA + ascorbato oxidado (monodesidroascorbato-MDHA ou desidroascorbato-DHA)] foi constituído de: 10 µL de extrato proteico; 30 µL de tampão fosfato de potássio a 150 mM (pH 7,4) com EDTA 6,3 mM e 10 µL de L-1 ditiotreitól (DTT) a 10 mM (em solução tampão fosfato de potássio a 150 mM (pH 7,4) com EDTA 6,3 mM). A mistura foi deixada em repouso por 15 min, em temperatura ambiente, antes de ser acrescida de: 10 µL de N-etilmaleiamida (NEM) 0,5%, 40 µL de TCA 10%, 40 µL de H₂PO₄ 44%, 40 µL bipiridil 4% e 20 µL FeCl₃ 3%. A mistura foi agitada por 10 min a 37 °C e depois ficou em repouso por 50 min na mesma temperatura antes de proceder com a leitura espectrofotométrica.

Os teores de AsA e ascorbato total foram mensurados a partir de leituras de absorvância a 525 nm realizadas em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Mx, BioTek). O cálculo dos teores de AsA e ascorbato total foram realizados mediante a curva de padrão de ácido L-ascórbico (LAW; CHARLES; HALLIWELL, 1983). O estado redox do ascorbato foi determinado pela razão entre o AsA e o ascorbato total. Os teores de AsA e ascorbato total foram expressos em µmol g⁻¹ MS.

3.6.13 Determinação do teor de lignina

O sistema radicular inteiro de uma planta de cada repetição foi liofilizado e macerado com auxílio de nitrogênio líquido. A lignina foi extraída segundo o método modificado do ácido tioglicólico (SUZUKI *et al.*, 2009). As amostras de 5 mg das raízes liofilizadas e maceradas foram lavadas com 1,4 mL de água desionizada e centrifugadas a 16.100 g por 10 min, em seguida, os precipitados foram adicionados de 1,2 mL metanol (99,8%) em banho-maria a 60 °C por 20 min e centrifugados a 16.100 x g por 10 min, sendo este procedimento repetido duas vezes antes dos precipitados serem secos em liofilizador por 2 h. Aos precipitados secos foram adicionados de 1 mL de HCl (3 N) e 0,1 mL de ácido tioglicólico (98%) em banho-maria a 80 °C por 3 h e centrifugados a 16.100 g por 10 min. Logo depois os precipitados foram lavados com 1 mL de água desionizada e novamente centrifugados a 16.100 x g por 10 min. Os precipitados foram ressuspensos com 1 mL de NaOH (1 N) e os tubos agitados verticalmente a 80 rpm por 16 h. Um mililitro do sobrenadante foi coletado após centrifugação a 16.100 x g por 10 min, e acidificado com 0,2 mL de HCl (99,8%), a reação foi resfriada com banho de gelo, e logo após as amostras foram centrifugados a 16.100 x g por 10 min. Os precipitados representam a lignina extraída, que foi ressuspensa com 1 mL de NaOH (1 N) sob agitação. Os teores de lignina foram quantificados por uma curva padrão construída

com concentrações de lignina alcalina e sua correspondente absorvância no comprimento de onda de 280 nm em espectrofotômetro de microplaca (Modelo Synergy™ Mx, BioTek). Os teores de lignina foram expressos em mg g^{-1} MS.

3.4.14 Histoquímica de barreiras à ROL

A raiz principal ou uma raiz adventícia (em caso de falta da raiz principal) de duas plantas de arroz de cada tratamento do experimento II foram seccionadas entre 35-40 mm a partir do ápice radicular. Este ponto foi escolhido por ser um intervalo um pouco acima de onde se inicia o bloqueio às perdas radiais de oxigênio (ROL) em raízes de arroz sob alagamento, segundo Kotula *et al.* (2009).

Os cortes foram fixados em uma solução de paraformaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,02 M (pH 7,2) por 48 horas à temperatura ambiente, de acordo com Karnovsky, 1965. Depois de fixado, o material foi desidratado em uma bateria de soluções com concentrações crescentes de etanol e, em seguida, embebido em historesina (Historesin Embedding Kit-Jung). Os cortes foram feitos com 6 μm de espessura, utilizando um micrótomo semiautomático (Slee Mainz CUT 5062). Em seguida, eles foram sujeitos aos seguintes corantes para análise citoquímica: azul de toluidina (AT) 0,025% (pH 4,0) por 20 min (VIDAL, 1977) e safranina 0,002% por 12 segundos (BOND *et al.*, 2008). As lâminas foram examinadas em um fotomicroscópio OLYMPUS UC30, acoplado a uma câmera digital (modelo UC30) e a um computador com o software "CELL" para análise de imagem.

Os corantes AT e safranina são exemplos de corantes metacromáticos. A metacromasia é um evento espectral caracterizado por um abaixamento do pico de absorção, até muitas vezes o seu desaparecimento (hipocromismo) acompanhado de um deslocamento de pico para comprimentos de onda mais curtos (deslocamento hipsocrômico). Deste modo, estes corantes não obedecem a lei de Lambert-Beer.

O AT cora em esverdeado, azul claro e róseo-avermelhado conforme maior for concentração do corante ligado a grupos carboxílicos, comuns na pectina, presente na parede celular e o principal componente da lamela média (CARPITA *et al.*, 2015). A safranina coloriu em tons de vermelho a lignina, os cromossomos, o nucléolo, a cutina e a suberina (JOHANSSON, 1940; KASTEN, 1989; RUZIN, 1999; HOROBIN, 2002). Sendo, portanto, um corante capaz de corar as barreiras à ROL, que são formadas pela deposição de suberina e/ou lignina.

4 RESULTADOS

4.1 Experimento I – Fase de perfilhamento

O número de perfilhos e as massas secas da parte aérea (MSPA), das folhas (MSF) e das raízes (MSR) foram afetados tanto pela salinidade quanto pela oxigenação da solução nutritiva, enquanto o comprimento médio das raízes foi alterado apenas pela oxigenação da solução nutritiva (Tabelas 1 e 2). Os tratamentos de salinidade e oxigenação mostraram interação significativa para as variáveis: área foliar, área foliar por perfilho, comprimento da parte aérea e teores de clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1- Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis número de perfilhos (N°PER), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca foliar (MSF), massa seca de raízes (MSR), área foliar (AF) e área foliar por perfilho (AFPE) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio					
		N°PER	MSPA	MSF	MSR	AF	AFPE
Oxigenação (O)	2	5,141*	1,403**	0,333**	0,123**	18929,5**	137,35**
Salinidade (S)	2	15,03**	4,84**	2,012**	0,223**	83921,8**	653,17**
O x S	4	2,784 ^{ns}	0,169 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,005 ^{ns}	4773,4**	92,46**
O / 0 mM de NaCl	2	-	-	-	-	22526,9**	300,49**
O / 40 mM de NaCl	2	-	-	-	-	4153,8**	19,81 ^{ns}
O / 80 mM de NaCl	2	-	-	-	-	1795,8*	1,94 ^{ns}
S/ $< 3,5$ ppm OD	2	-	-	-	-	45348,6**	446,9**
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	-	-	-	-	39417,6**	367,7**
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	-	-	-	-	8702,4**	23,38 ^{ns}
Resíduo	27	1,14	0,086	0,023	0,006	469,5	17,42
CV (%)		14,17	14,26	13,04	15,40	12,38	18,28

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

Tabela 2 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis comprimento da parte aérea (CPA); comprimento das raízes (CR); teor de clorofila *a* (Cfl_a), clorofila *b* (Cfl_b), clorofila total (Cfl_{total}) e carotenoides (CAR) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio					
		CPA	CR	Cfl _a	Cfl _b	Cfl _{total}	CAR
Oxigenação (O)	2	199,08**	519,55**	33,41**	5,14**	61,25**	1,381**
Salinidade (S)	2	439,65**	1,89 ^{ns}	4,11 ^{ns}	0,933 ^{ns}	8,65 ^{ns}	0,105 ^{ns}
O x S	4	35,37**	7,13 ^{ns}	11,95**	2,10**	23,54**	0,393*
O / 0 mM de NaCl	2	206,2**	-	2,72 ^{ns}	0,41 ^{ns}	2,05 ^{ns}	0,19 ^{ns}
O / 40 mM de NaCl	2	49,69**	-	6,58 ^{ns}	1,01 ^{ns}	12,4 ^{ns}	0,20 ^{ns}
O / 80 mM de NaCl	2	13,92*	-	48,01**	7,93**	93,88**	1,77**
S/ $< 3,5$ ppm OD	2	222,4**	-	1,57 ^{ns}	1,33 ^{ns}	5,45 ^{ns}	0,07 ^{ns}
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	259,12**	-	22,89**	3,12**	43,09**	0,68**
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	28,9**	-	3,56 ^{ns}	0,69 ^{ns}	7,19 ^{ns}	0,14 ^{ns}
Resíduo	27	3,36	3,594	2,37	0,489	4,758	0,124
CV (%)		3,56	6,68	13,07	16,82	13,64	15,59

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

A redução da oxigenação da solução nutritiva e a aplicação de NaCl a 40 ou a 80 mM de NaCl reduziram o perfilhamento, a MSPA, a MSF e a MSR das plantas de arroz (Figura 1). Em relação ao controle, a baixa oxigenação (OD $< 3,5$ ppm) provocou uma redução de 12% sobre a capacidade de perfilhamento, de 26% sobre a MSPA, de 23% sobre a MSF e de 30% sobre a MSR; enquanto que a salinidade de 40 ou 80 mM de NaCl provocou uma redução média de 21%

sobre a capacidade de perfilhamento, de 37% sobre a MSPA, de 40% sobre a MSF e de 32% sobre a MSR, respectivamente.

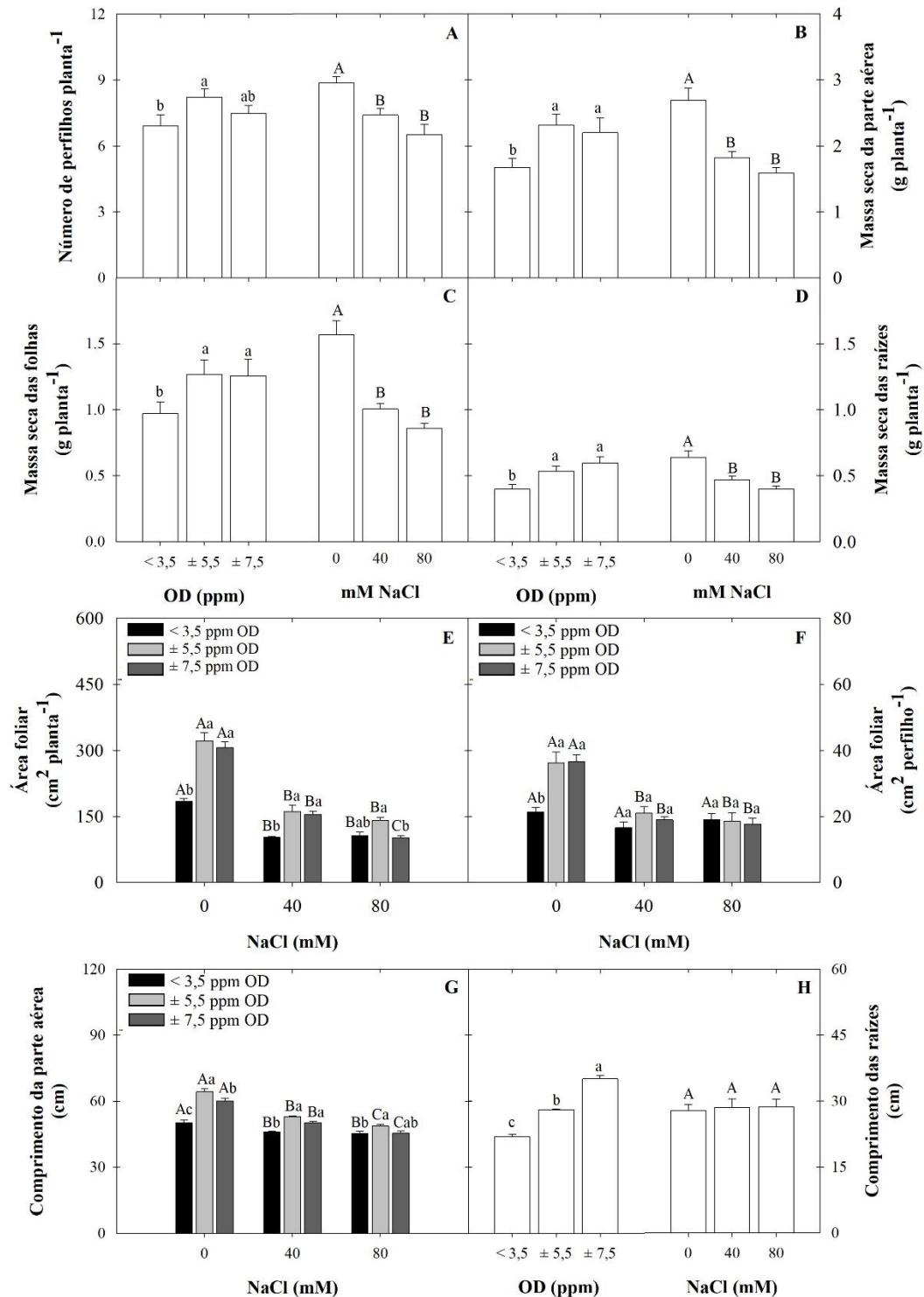


Figura 1 – Número de perfilhos (A), massa seca da parte aérea (B), massa seca foliar (C), massa seca de raízes (D), área foliar (E), área foliar por perfilho (F), comprimento da parte aérea (G) e comprimento da raiz (H) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [<math>< 3,5, \pm 5,5 \text{ e } \pm 7,5 \text{ ppm}</math> de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

A área foliar das plantas de arroz foi afetada pela redução da oxigenação e pelo aumento da salinidade da solução nutritiva (Figura 1E). A salinidade, a 40 e 80 mM de NaCl, provocou uma redução média de 53% na área foliar das plantas de arroz sob OD de $\pm 5,5$ ppm e de 67% em plantas sob OD $< 3,5$ ppm, em relação ao controle. Em plantas sob OD de $\pm 7,5$ ppm, a salinidade com NaCl a 40 e 80 mM provocaram reduções de 52% e 68% na área foliar, respectivamente. Em condições não salinas, a redução de OD para valores menores que 3,5 ppm provocou uma redução de 42% na área foliar. Por outro lado, a área foliar média por perfilho foi reduzida em 48% em função da baixa oxigenação (OD $< 3,5$ ppm) e/ou da salinidade (a partir de 40mM de NaCl) (Figura 1F).

O crescimento longitudinal da parte aérea foi reduzido em 24% pela salinidade e em 22% pela baixa oxigenação da solução nutritiva, em relação ao controle, mas a combinação de baixa oxigenação com a salinidade reduziu em 29% o comprimento da parte aérea (Figura 1G). Por outro lado, a alta oxigenação que provocou uma pequena redução de 6% no comprimento da parte aérea quando sob salinidade com NaCl a 40 e 80 mM provocaram juntos reduções de 17% e 25%, respectivamente (Figura 1G). O crescimento longitudinal das raízes não foi afetado pela salinidade, mas quanto maior a concentração de oxigênio da solução nutritiva, maior foi o comprimento das raízes (Figura 1H). Assim, em relação ao controle, o comprimento da raiz foi reduzido em 22% com OD $< 3,5$ ppm, mas aumentou em 25% com OD de cerca de 7,5 ppm.

A salinidade na solução nutritiva, tanto a 40 mM como a 80 mM de NaCl, acarretaram danos muito similares a todas variáveis de crescimento das plantas de arroz estudadas. Além disso, a solução nutritiva com baixa concentração de OD ($< 3,5$ ppm) provocou prejuízos muito similares aos da salinidade em plantas de arroz, tanto em qualidade como em magnitude (Figura 1). Por outro lado, plantas de arroz crescendo em solução nutritiva com alta concentração de OD (cerca de 7,5 ppm) apresentam respostas de crescimento semelhantes ao de plantas crescendo em solução nutritiva com oxigenação controle, tanto na presença como na ausência de salinidade, com exceção do estímulo promovido pela alta oxigenação ao crescimento longitudinal de raízes de arroz (Figura 1).

O acompanhamento do desempenho fotossintético durante 10 dias da aplicação dos tratamentos (DAT) de oxigenação e salinidade mostrou que as plantas de arroz foram afetadas pelos tratamentos e suas durabilidades (Tabela 3). Observou-se que para todas as variáveis fotossintéticas analisadas houve interação significativa entre os tratamentos de oxigenação e salinidade.

Tabela 3 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis taxa de assimilação líquida de carbono (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E), concentração interna de CO_2 (C_i), eficiência de carboxilação (A/C_i) e eficiência instantânea do uso de água (A/E) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl), avaliadas aos 2, 6 e 10 DAT

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio					
		<i>A</i>	<i>g_s</i>	<i>E</i>	<i>C_i</i>	<i>A/C_i</i>	<i>A/E</i>
Oxigenação (O)	2	1318,3**	0,551**	92,56**	53128,2**	0,00772**	4,66**
Salinidade (S)	2	116,38**	0,351**	29,47**	12233,5**	0,00003 ^{ns}	2,53*
Tempo (T)	2	73,45**	0,512**	15,50**	17205,5**	0,00003 ^{ns}	8,10**
O x S	4	57,29**	0,100**	10,04**	6201,01**	0,00003 ^{ns}	1,40*
O x T	4	243,77**	0,030**	10,52**	8010,8**	0,0029**	1,18 ^{ns}
S x T	4	11,72 ^{ns}	0,018**	1,20 ^{ns}	435,58 ^{ns}	0,0006 ^{ns}	0,11 ^{ns}
O x S x T	8	11,72 ^{ns}	0,004 ^{ns}	0,433 ^{ns}	662,23 ^{ns}	0,0006 ^{ns}	0,20 ^{ns}
Resíduo	81	8,93	0,0047	0,774	1273,42	0,0002	0,54
CV (%)		14,31	24,90	17,43	16,09	18,58	16,67

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

A baixa oxigenação da solução nutritiva reduziu a assimilação líquida de carbono (*A*) em 49%, em relação ao controle (Figura 2A). Em condição controle de oxigenação, a salinidade foi prejudicial apenas com NaCl a 80 mM, provocando uma redução de 19% em *A*; contudo, sob baixa oxigenação, a salinidade não agravou efeito prejudicial desta condição de severa hipóxia sobre a assimilação de carbono (Figura 2A).

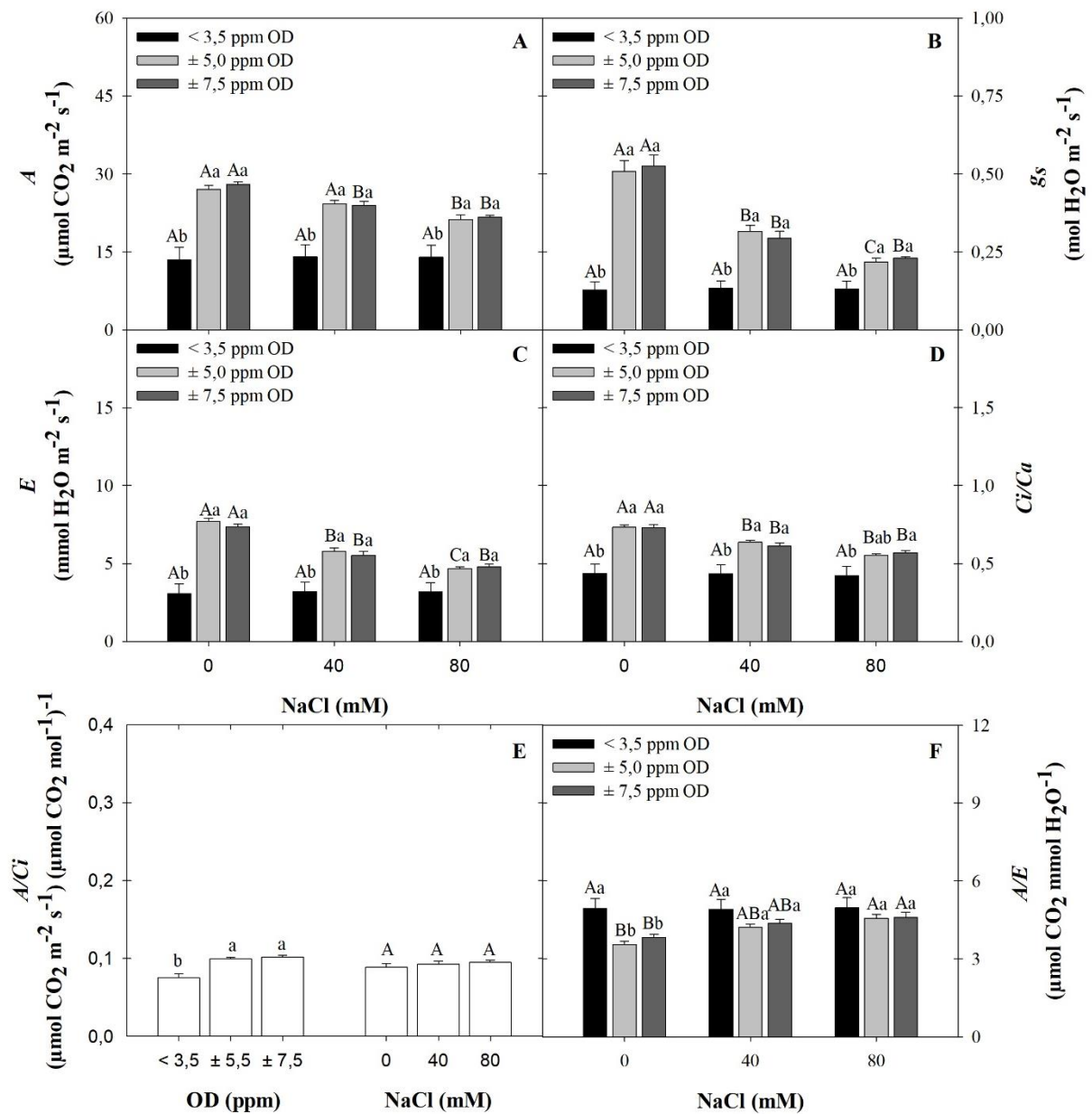


Figura 2 – Interação entre os tratamentos de oxigenação [$< 3,5, \pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) para taxa de assimilação líquida de carbono (A ; A), condutância estomática (g_s ; B), taxa de transpiração (E ; C), razão entre concentração interna e ambiente de CO_2 (Ci/Ca ; D), eficiência de carboxilação (A/Ci ; E) e eficiência instantânea do uso de água (A/E ; F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 11. Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

A condutância estomática (g_s) e a taxa de transpiração (E) apresentaram respostas negativas aos tratamentos, de modo que a baixa oxigenação provocou reduções médias de 74% na g_s e 59% na E , enquanto a salinidade (40 e 80 mM de NaCl) provocou redução de 57% na g_s e 39% na E (Figura 2B, C). Os prejuízos provocados sobre g_s e E pela combinação de salinidade e baixa oxigenação não superaram os provocados somente pela baixa oxigenação. A salinidade

reduziu a relação entre a concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a) em 19% e a baixa oxigenação da solução nutritiva reduziu a C_i/C_a em 40%, em relação ao controle (Figuras 2D). Sob baixa oxigenação, a salinidade não aumentou o efeito prejudicial desta condição de cultivo sobre a relação C_i/C_a (Figura 2D). As plantas de arroz apresentaram uma eficiência de carboxilação (A/C_i) média de $0,09 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} (\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1})^{-1}$ (Figura 2E). Entretanto, foi observado que a baixa oxigenação reduz esta eficiência em 25%. O estresse salino a 80 mM de NaCl e a baixa oxigenação foram condições para expressão de uma melhor eficiência instantânea do uso da água (A/E) pelas plantas de arroz, com aumento de 34% no A/E (Figura 2F).

A análise de trocas gasosas em função do tempo de início dos tratamentos mostrou que as variáveis fotossintéticas: A , g_s , E e as relações C_i/C_a e A/C_i foram reduzidas pela baixa oxigenação logo no 2º DAT (Figura 3A-D). Após mais quatro dias (6º DAT), observou-se um pequeno aumento nestas variáveis, que se manteve até os 10 DAT. A melhor eficiência instantânea do uso da água foi em plantas sob baixa oxigenação, principalmente no 2º DAT (Figura 3F).

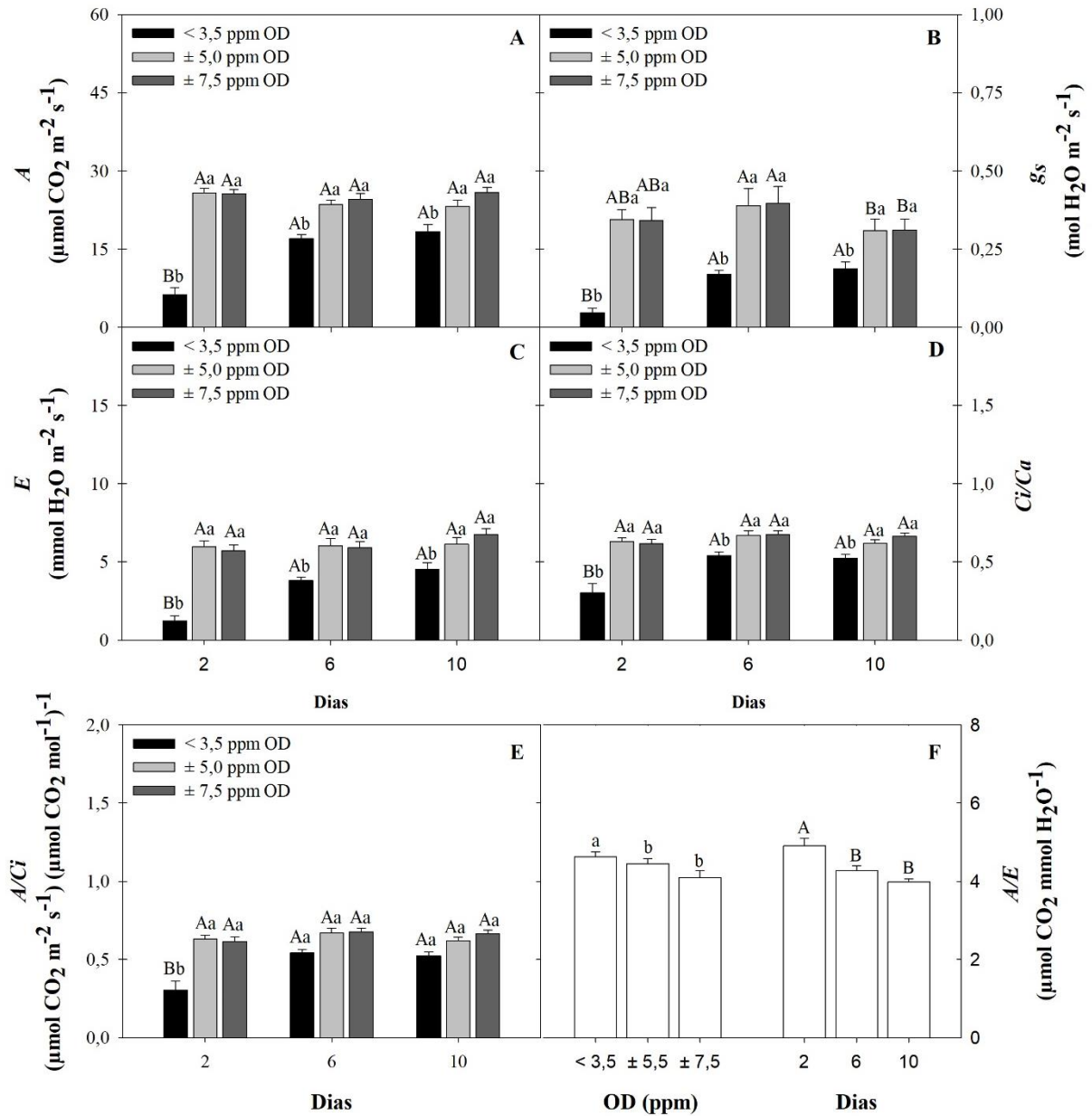


Figura 3 – Interação entre os tratamentos de oxigenação [$< 3,5, \pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e tempo de avaliação (2, 6 e 10 dias) para taxa de assimilação líquida de carbono (A ; A), condutância estomática (g_s ; B), taxa de transpiração (E ; C), razão entre concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a ; D), eficiência de carboxilação (A/C_i ; E) e eficiência instantânea do uso de água (A/E ; F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 11. Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de tempo de avaliação e as letras maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação dentro de cada tratamento de oxigenação.

A análise de trocas gasosas em função do tempo de início dos tratamentos mostrou também que a salinidade reduziu os valores das variáveis A , E e C_i/C_a , mas não houve interação significativa com o tempo de aplicação (Tabela 3, Figura 4A, C, D). Entretanto, houve uma melhor resposta em relação as reduções ocorridas sob estresse tendo em vista a condição controle destas variáveis após o 6º DAT (Figura 4A, C, D).

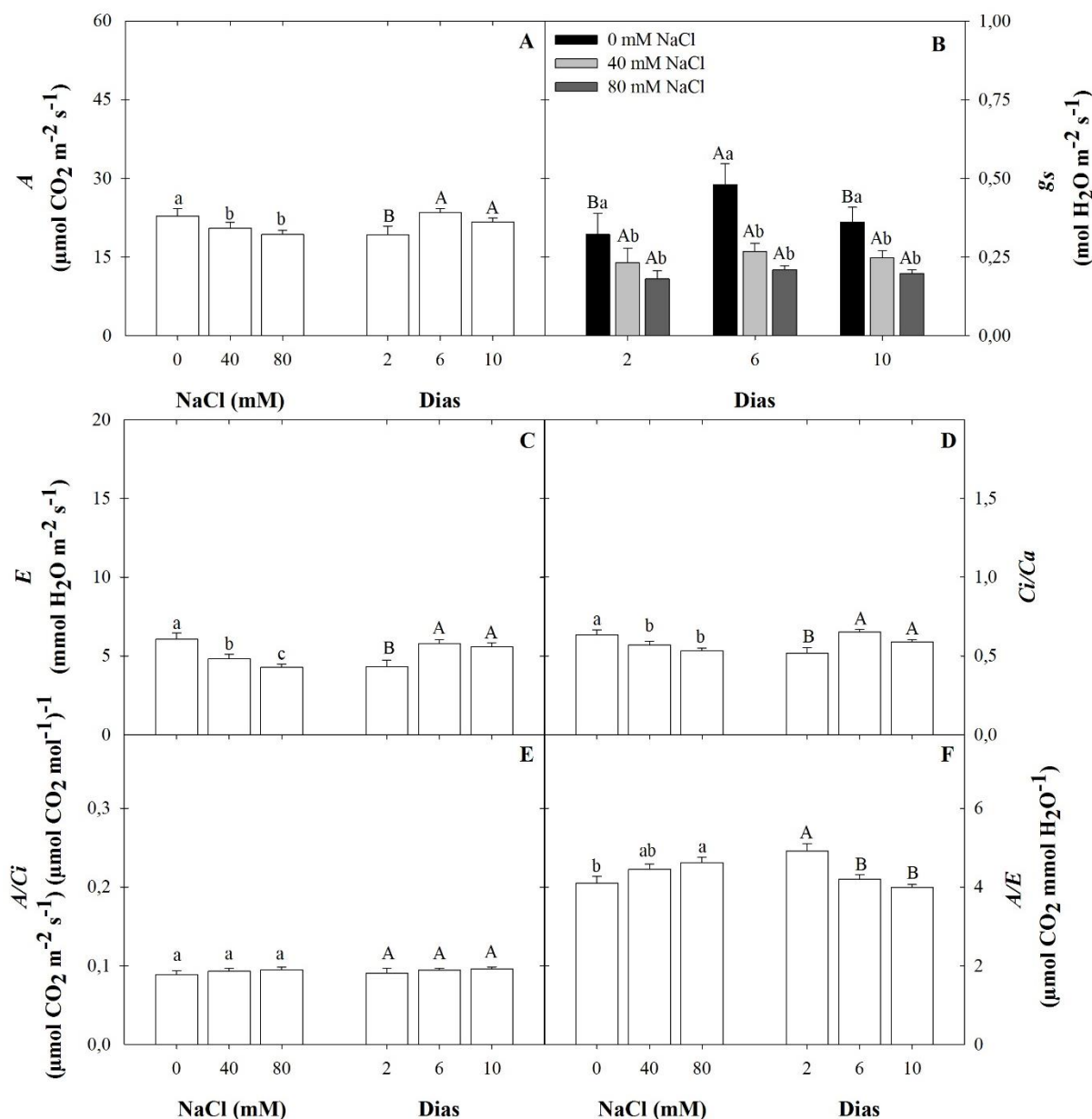


Figura 4 – Interação entre os tratamentos de salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl) e tempo de avaliação (2, 6 e 10 dias) para condutância estomática (g_s ; B), e interação não significativa para taxa de assimilação líquida de carbono (A; A), condutância estomática (g_s ; B), taxa de transpiração (E ; C), razão entre concentração interna e ambiente de CO_2 (Ci/Ca ; D), eficiência de carboxilação (A/Ci ; E) e eficiência instantânea do uso de água (A/E ; F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 11. Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de tempo de avaliação e as letras maiúsculas os tratamentos de tempo de avaliação dentro de cada tratamento de salinidade.

A salinidade reduziu a g_s e houve interação com o tempo de aplicação (Tabela 3, Figura 4B). No 6° DAT, as plantas não estressadas pela salinidade apresentaram aumento na g_s , mas o mesmo não ocorreu nas plantas sob salinidade, uma vez que a g_s foi reduzida logo aos 2 DAT e se manteve estável ao longo dos dias de tratamento (Figura 4B).

A eficiência instantânea de carboxilação não foi alterada pela salinidade e não ocorreu qualquer interação com o tempo de aplicação dos tratamentos, enquanto que a eficiência

instantânea do uso da água foi aumentada em plantas sob salinidade com 80 mM de NaCl logo no 2º DAT, mas houve uma redução nessa variável a partir 6º DAT (Figura 4E, F).

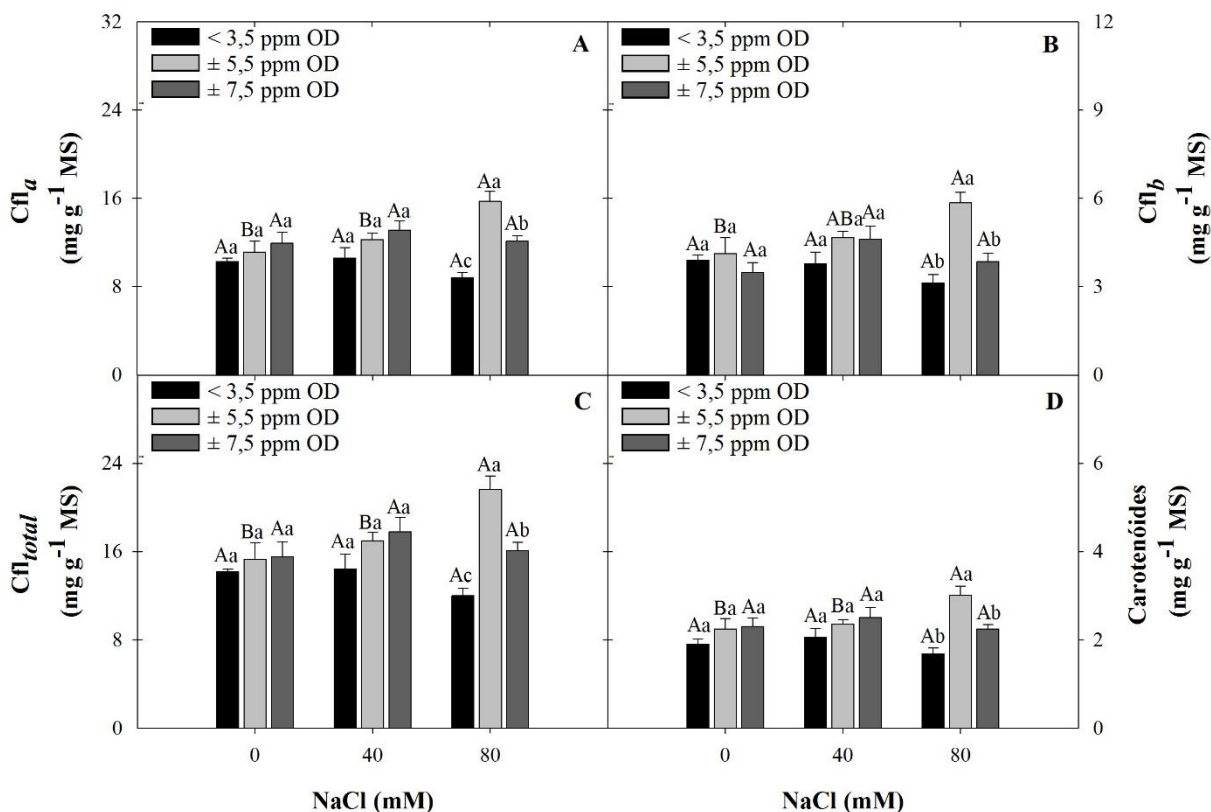


Figura 5 – Teores de clorofila a (Cfl_a; C), clorofila b (Cfl_b; D), clorofila total (Cfl_{total}; E) e carotenóides (F) em plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

Os teores de clorofila *a*, *b* e *total*, e carotenóides variaram apenas com a salinidade com NaCl a 80 mM e oxigenação controle. Nesta condição, houve aumento médio de 41% em cada tipo de clorofila e de 34% no teor de carotenóides, em relação ao controle (Figura 5).

Não houve interação significativa entre os fatores salinidade e oxigenação no acúmulo de Cl⁻ nas raízes de arroz e a oxigenação não afetou o teor de Cl⁻ nas raízes (Tabela 4). No entanto, houve interação entre salinidade e oxigenação com relação ao acúmulo de Na⁺ nas raízes e Na⁺ e Cl⁻ nas folhas (Tabela 4).

Tabela 4 – Resumo do quadro de ANOVA para os teores de Na⁺ e Cl⁻ nas raízes e folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113, submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio			
		Raízes		Folhas	
		Na ⁺	Cl ⁻	Na ⁺	Cl ⁻
Oxigenação (O)	2	82531,6**	17164 ^{ns}	39785,8**	193272,3**
Salinidade (S)	2	1437708,8**	1391825,9*	194628,44**	1081590,2**
O x S	4	27284,03**	10863,3 ^{ns}	54573,3**	705467**
O / 0 mM de NaCl	2	2404,9 ^{ns}	-	385,18 ^{ns}	2439,6 ^{ns}

O / 40 mM de NaCl	2	85240,6**	-	68280,1**	180611,9**
O / 80 mM de NaCl	2	49455,2**	-	80267,03**	151314,3**
S/ < 3,5 ppm OD	2	348652,1**	-	77464,99**	526104,1**
S/ ±5,5 ppm OD	2	713776,3**	-	22505,8**	141861**
S/ ±7,5 ppm OD	2	429848,6**	-	203804,1**	554715**
Resíduo	27	3291,8	8953,1	2255,1	2975,6
CV (%)		12,14	19,98	22,84	7,56

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

As plantas de arroz apresentaram, sob condições controle, os teores de Na^+ de 106,45 e 71,64 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS nas raízes e folhas, respectivamente, e de Cl^- de 101,93 e 449,91 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS de nas raízes e folhas, respectivamente (Figura 6). Nas raízes, houve um acúmulo de Na^+ e Cl^- acompanhando os níveis de salinidade a que foram submetidas; assim sendo, a salinidade a 40 mM e 80 mM de NaCl, sob a oxigenação controle, provocaram acréscimos nos teores de Na^+ de 519% e 779% e nos teores de Cl^- de 438% e 656%, respectivamente (Figura 6A, C).

A exposição à baixa oxigenação não alterou o teor de Na^+ nas raízes na ausência de salinidade, assim como não alterou o teor de Cl^- nas raízes sob qualquer condição de salinidade (Figura 6A, C). Apesar da salinidade aumentar o teor Na^+ nas raízes em todos os níveis de oxigenação, houve um menor aumento no teor de Na^+ nas raízes sob baixa ou alta oxigenação (Figura 6A).

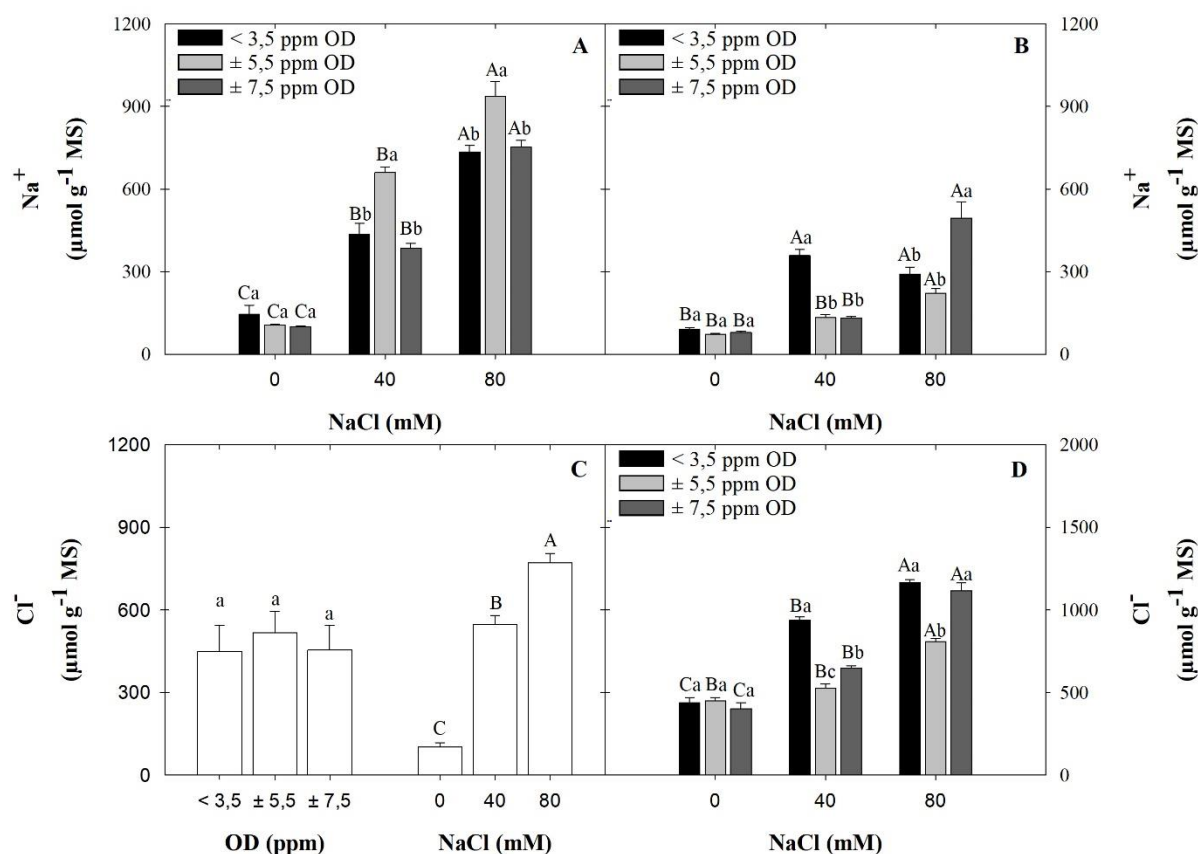


Figura 6 – Teores de Na^+ nas raízes (A) e nas folhas (B), e teores de Cl^- nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio

dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

Nas folhas, a salinidade com NaCl a 80 mM contribuiu para um aumento de 116% e de 65% nos teores de Na^+ e Cl^- , respectivamente, em relação à condição controle (Figura 6B, D). Os tratamentos de oxigenação da solução nutritiva também não afetaram os teores de Na^+ e Cl^- na ausência de salinidade, tanto nas folhas como nas raízes (Figura 6B, D). Entretanto, a exposição à 40 mM de NaCl e baixa oxigenação elevou os teores de Na^+ em 173%, e de Cl^- em 78% em relação aos teores obtidos nas folhas de plantas sob oxigenação controle ($\pm 5,5$ ppm de OD) na mesma salinidade. Por outro lado, sob salinidade a 80 mM de NaCl apenas a alta oxigenação provocou aumento no teor de Na^+ de 92%, e tanto a baixa como a alta oxigenação provocaram aumento nos teores de Cl^- nas folhas de 41% (Figura 6B, D).

Os teores de Ca^{2+} nas folhas não foram afetados pela oxigenação, e houve interação significativa entre salinidade e oxigenação para os teores de K^+ nas raízes e folhas, e de Ca^{2+} nas raízes. (Tabela 5).

Tabela 5 – Resumo do quadro de ANOVA para os teores de K^+ e Ca^{2+} nas raízes e folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio			
		Raízes		Folhas	
		K^+	Ca^{2+}	K^+	Ca^{2+}
Oxigenação (O)	2	216933,64**	23437133,7**	176990,8**	1711830,3 ^{ns}
Salinidade (S)	2	464919,01**	129156613,9**	171436,1**	34704123,9**
O x S	4	12662,10**	2750786,4**	195044,8**	2304145,4 ^{ns}
O / 0 mM de NaCl	2	112389,3**	18932704**	3780,17 ^{ns}	-
O / 40 mM de NaCl	2	105142,9**	8514405**	12565,4 ^{ns}	-
O / 80 mM de NaCl	2	24725,6**	1491597,4 ^{ns}	550734,9**	-
S/ $< 3,5$ ppm OD	2	221160,58**	43176008,5**	34631,9**	-
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	181269,26**	66267275,6**	9258,68**	-
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	87813,37**	25214902**	517635,3**	-
Resíduo	27	2843,3	52718,5	3792,4	1010807,2
CV (%)		8,71	8,3	8,33	9,5

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

A redução na oxigenação reduziu o teor de K^+ nas raízes em 32% e este efeito foi igualmente agravado pela salinidade com NaCl a 40 e 80 mM (Figura 7A). Sob oxigenação controle, a salinidade a 40 e 80 mM de NaCl provocaram reduções de 24% e 45% nos teores de K^+ nas raízes, sendo estas reduções agravadas quando a solução nutritiva estava sob maior oxigenação (Figura 7A).

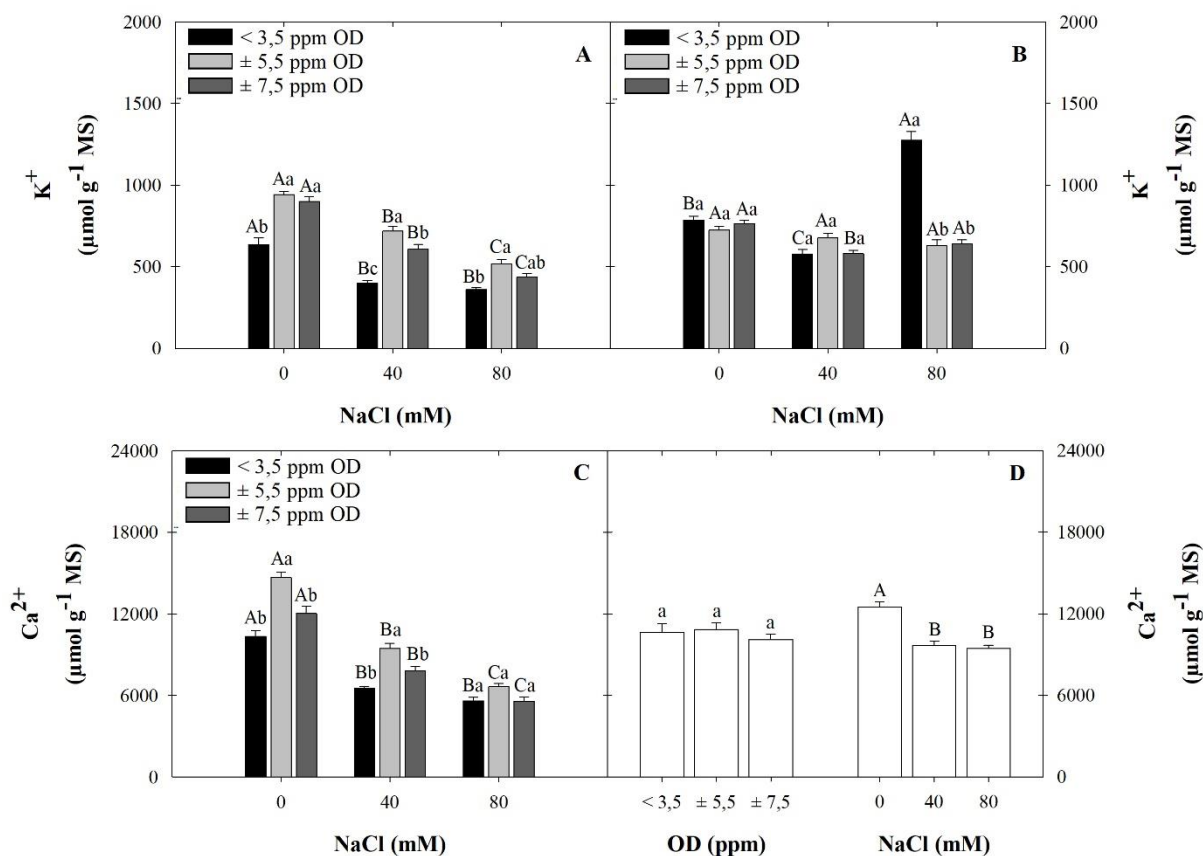


Figura 7 – Teores de K^+ nas raízes (A) e nas folhas (B), e teores de Ca^{2+} nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

A salinidade não teve efeito sobre o teor de K^+ nas folhas sob oxigenação controle, mas a baixa oxigenação aumentou o teor de K^+ nas folhas em 103% sob salinidade a 80 mM de NaCl em relação ao controle de oxigenação nesta mesma salinidade (Figura 7B). Nas raízes, qualquer alteração na oxigenação controle ($\pm 5,5$ ppm de OD) provocou uma redução no teor de Ca^{2+} de 29%, na ausência de salinidade. Enquanto que a salinidade provocou gradativa redução no teor de Ca^{2+} , de modo que a exposição ao NaCl a 40 e 80 mM provocou reduções no teor de Ca^{2+} de 35% e 54%, respectivamente, em relação ao controle. Nas folhas, a oxigenação não afetou os teores de Ca^{2+} , mas a salinidade com NaCl a 40 ou 80 mM provocou uma redução média de 23% (Figura 7C, D).

Não houve interação significativa entre os fatores oxigenação e salinidade para os teores de sacarose nas folhas, nem para os teores de glicose e frutose nas raízes e folhas (Tabela 6). A sacarose não foi detectada nas raízes, porém seu teor nas folhas mostrou-se maior nos tratamentos sem salinidade e/ou com alta oxigenação (Figura 8).

Tabela 6 – Resumo do quadro de ANOVA para sacarose nas folhas, e glicose e frutose nas raízes e folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio				
		Raízes		Sacarose	Folhas	
		Glicose	Frutose		Glicose	Frutose
Oxigenação (O)	2	4993,28**	12469,9**	63720,6**	3511,34**	3612,4**
Salinidade (S)	2	185,13 ^{ns}	182,36 ^{ns}	71085,9**	144,84 ^{ns}	1886,2**
O x S	4	174,61 ^{ns}	204,96 ^{ns}	22605,7 ^{ns}	130,84 ^{ns}	276,87 ^{ns}
O / 0 mM de NaCl	2	-	-	-	-	-
O / 40 mM de NaCl	2	-	-	-	-	-
O / 80 mM de NaCl	2	-	-	-	-	-
S/ $< 3,5$ ppm OD	2	-	-	-	-	-
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	-	-	-	-	-
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	-	-	-	-	-
Resíduo	27	109,36	237,95	15461,3	258,61	318,23
CV (%)		23,01	25,12	63,76	17,42	12,48

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

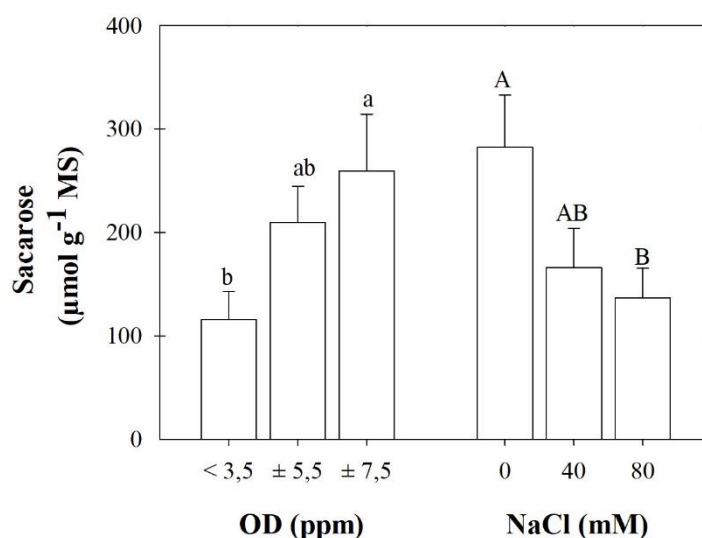


Figura 8 – Teores de sacarose nas folhas de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade.

Os teores de glicose e frutose, nas raízes, não foram afetados pela salinidade, sendo apenas reduzidos pela baixa oxigenação em 59% e 68%, respectivamente, em relação ao controle (Figura 9A, C). Por outro lado, nas folhas, foi observada uma redução de 24% no teor de glicose sob baixa oxigenação e aumento de 16% nos teores de frutose sob salinidade. (Figura 9B, D).

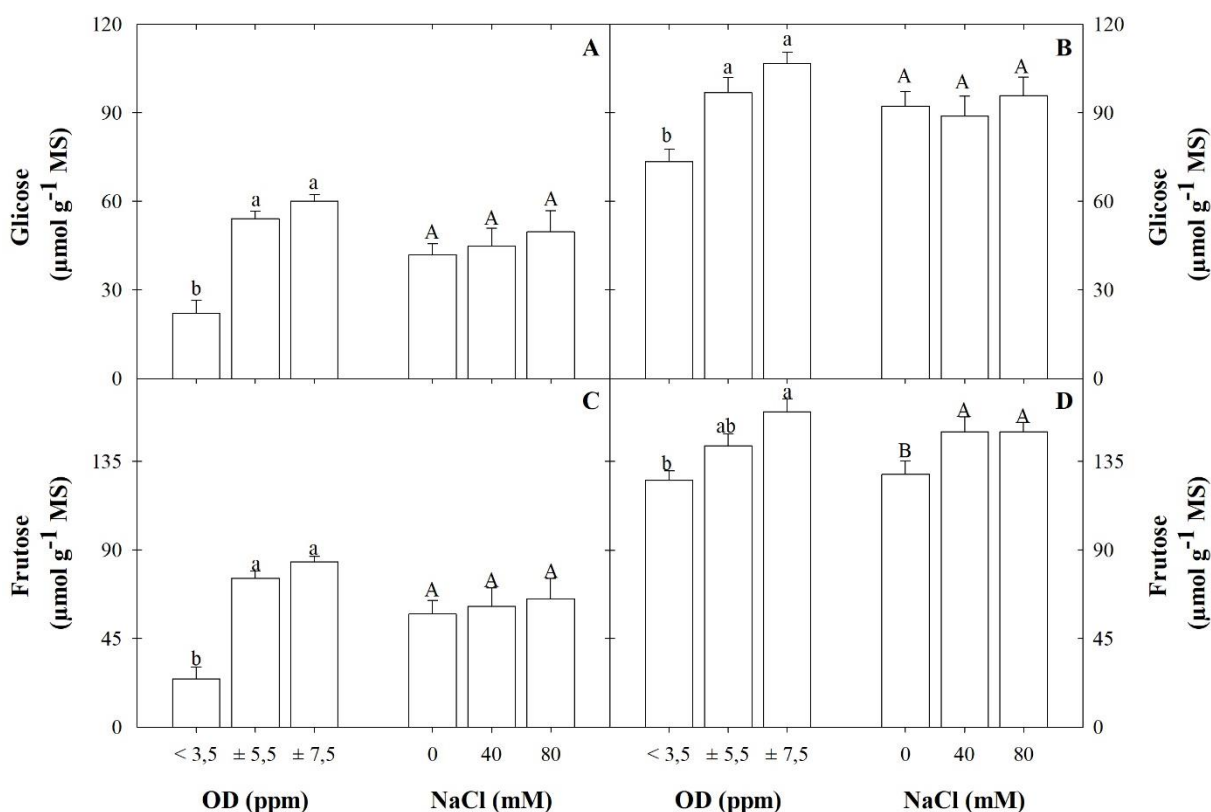


Figura 9 – Teores de glicose nas raízes (A) e nas folhas (B), e teores de frutose nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade.

Os teores de proteína nas folhas foram afetados pela salinidade e oxigenação de modo independente, mas nas raízes houve uma interação significativa entre a salinidade e a oxigenação para esta variável, assim como para a peroxidação de lipídeos nas raízes e nas folhas (Tabela 7). Nas raízes, o teor de proteína foi reduzido em 56% apenas sob salinidade a 40 mM de NaCl e baixa oxigenação (Figura 10A). Nas folhas, a salinidade com NaCl a 40 mM provocou aumento de 24% e a baixa oxigenação provocou também aumento de 20% no teor de proteína, em relação ao controle (Figura 10B).

Tabela 7 – Resumo do quadro de ANOVA para os teores de proteínas e peroxidação lipídica (MDA) nas folhas e raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio			
		Raízes		Folhas	
		Proteína	MDA	Proteína	MDA
Oxigenação (O)	2	1110,1 ^{ns}	16543,2 ^{**}	60812 ^{**}	217064,6 ^{ns}
Salinidade (S)	2	817,5 ^{ns}	32462 ^{**}	55914,2 ^{**}	236296,3 ^{ns}
O x S	4	2361,5 ^{**}	49217,4 ^{**}	689,13 ^{ns}	235447,3 ^{**}
O / 0 mM de NaCl	2	1340,3 ^{ns}	34742,6 ^{**}	-	273917 ^{**}
O / 40 mM de NaCl	2	3715,6 ^{**}	18137,1 ^{**}	-	317785 ^{**}
O / 80 mM de NaCl	2	777,3 ^{ns}	62098,3 ^{**}	-	96256,5 ^{**}
S/ < 3,5 ppm OD	2	3440,7 ^{**}	55780,7 ^{**}	-	23896,6 ^{**}
S/ ±5,5 ppm OD	2	1045,9 ^{ns}	53556,7 ^{**}	-	232066 ^{ns}
S/ ±7,5 ppm OD	2	1053,9 ^{ns}	21559,4 ^{**}	-	451228 ^{**}

Resíduo	27	445,42	2388,1	8219,9	15768,3
CV (%)		21,59	12,38	15,46	13,65

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

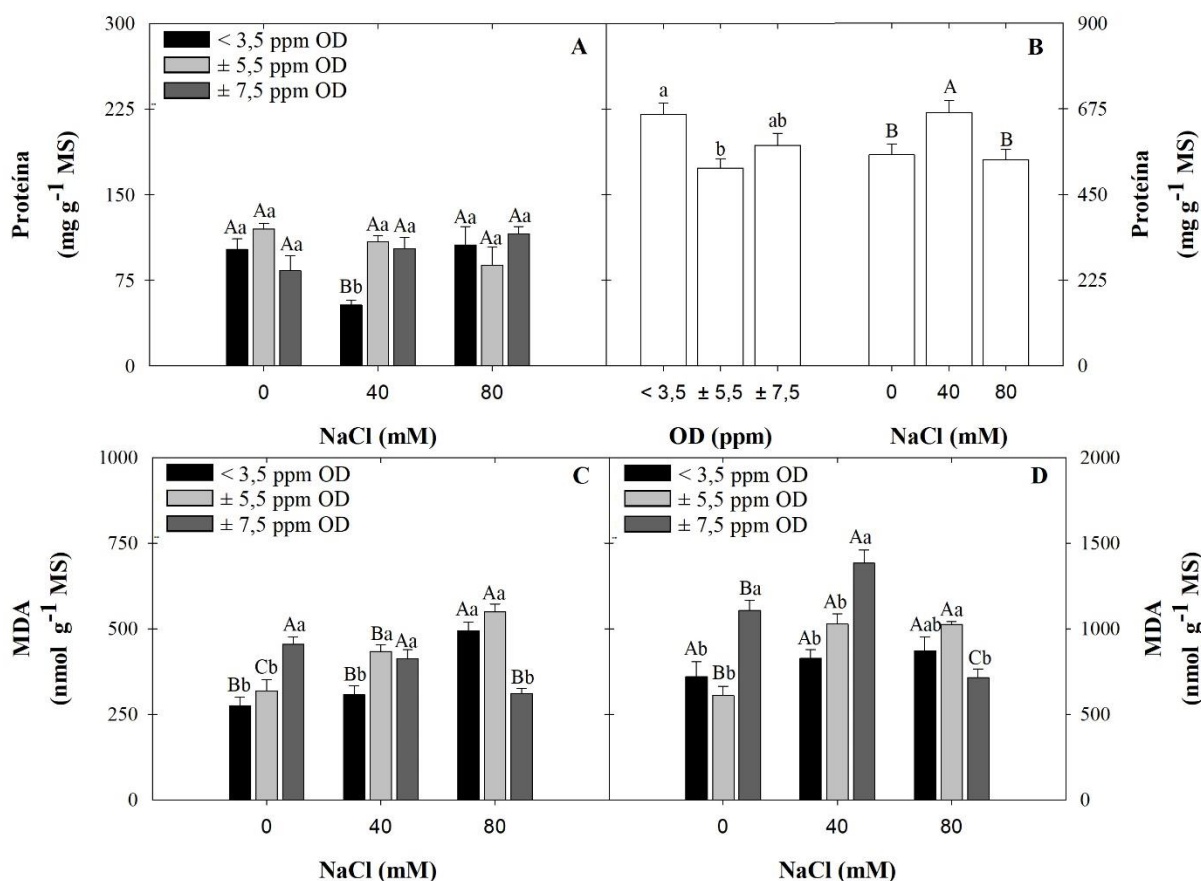


Figura 10 - Teores de proteína nas raízes (A) e nas folhas (B), e de MDA nas raízes (C) e nas folhas (D) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

A salinidade aumentou significativamente os teores de malondialdeído (MDA), que é um indicativo de peroxidação de lipídeos, sob condição controle de oxigenação, tanto nas raízes quanto nas folhas (Figura 10C, D). Os teores de MDA foram similares ao tratamento controle apenas sob salinidade ≤ 40 mM de NaCl sob baixa oxigenação e em salinidade com NaCl a 80 mM sob alta oxigenação, tanto nas raízes quanto nas folhas (Figura 10C, D).

As enzimas CAT de folhas, e SOD e G-POD de raízes apresentaram atividades alteradas pela interação dos fatores salinidade e oxigenação, enquanto que a atividade da SOD de folhas foi alterada por esses fatores de modo independente (Tabela 8).

Tabela 8 – Resumo do quadro de ANOVA para as atividades enzimáticas da SOD e CAT nas folhas e da SOD e G-POD nas raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio			
		Raízes		Folhas	
		SOD	G-POD	SOD	CAT

Oxigenação (O)	2	751223,9**	1,6 E ¹⁰ **	1886073,6**	0,05**
Salinidade (S)	2	150617,2 ^{ns}	3,1 E ⁹ ^{ns}	415636,7**	0,014**
O x S	4	480036,4**	7,5 E ⁹ **	69036,6 ^{ns}	0,003*
O / 0 mM de NaCl	2	203978,9 ^{ns}	1,28 E ¹⁰ **	-	0,0074**
O / 40 mM de NaCl	2	1317062,6**	1,06 E ¹⁰ **	-	0,0195**
O / 80 mM de NaCl	2	190255,4 ^{ns}	7,6 E ⁹ *	-	0,031**
S/ < 3,5 ppm OD	2	107677,1 ^{ns}	9,23 E ⁹ **	-	0,0034 ^{ns}
S/ ±5,5 ppm OD	2	732899,7**	1,03 E ⁹ ^{ns}	-	0,007**
S/ ±7,5 ppm OD	2	270113,3*	7,82 E ⁹ *	-	0,009**
Resíduo	27	70075,6	1,46 E ⁹	66212,8	0,0011
CV (%)		24,49	25,02	12,15	16,72

* p < 0,05; ** p < 0,01; ns p > 0,05

A SOD, nas raízes, se mostrou com maior atividade com o aumento da salinidade sob condições controle de oxigenação, e sob a salinidade com NaCl a 40 mM e baixa oxigenação (Figura 11A). Entretanto, a atividade da SOD, nas folhas, sob qualquer tratamento foi menor ou igual às condições controle de salinidade e de oxigenação (Figura 11B).

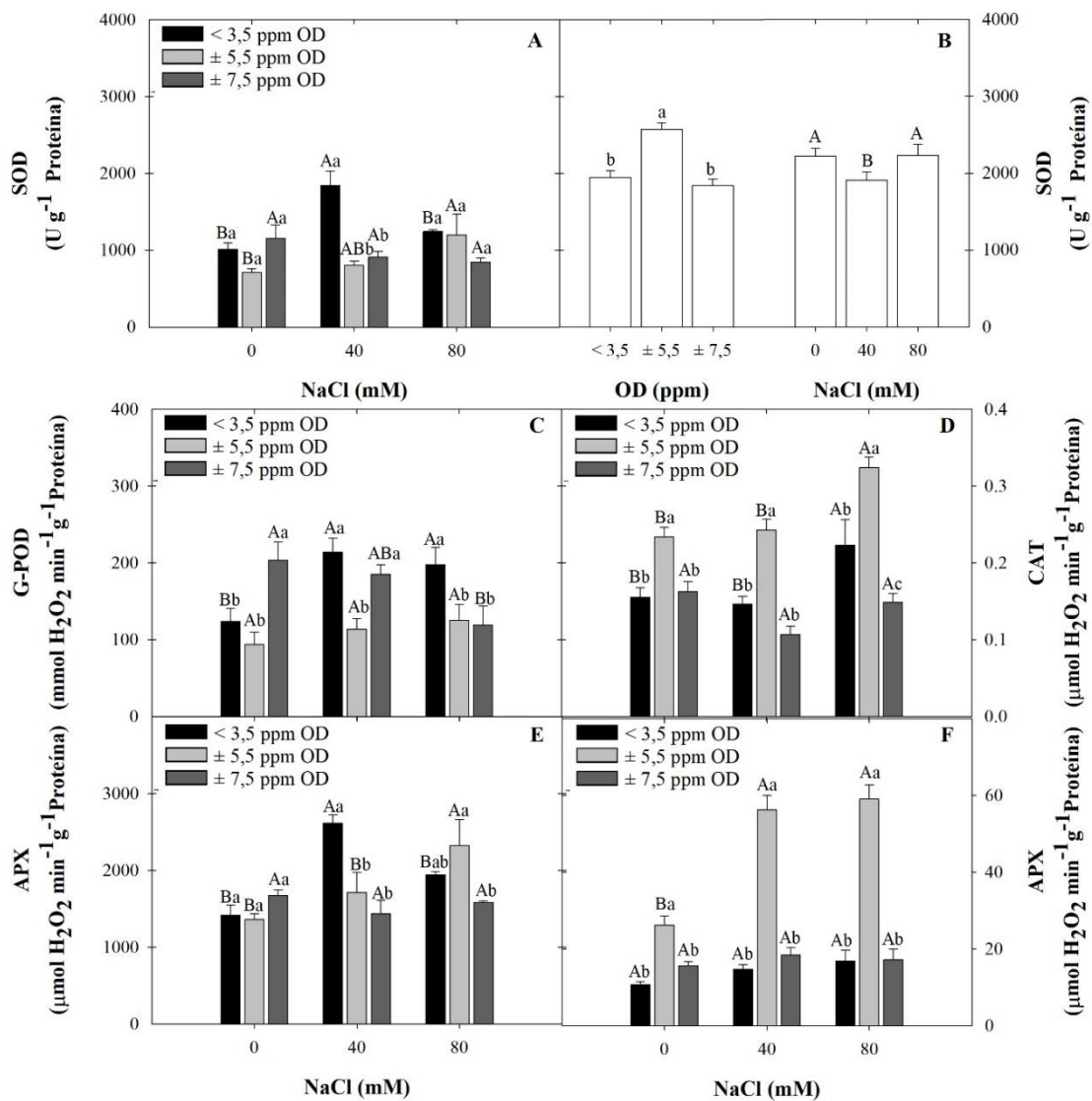


Figura 11 – Atividade enzimática da SOD nas raízes (A) e nas folhas (B), da G-POD nas raízes (C) e da CAT nas folhas (D), da APX nas raízes (E) e nas folhas (F) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [< 3,5, ± 5,5 e ± 7,5 ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para

os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

A atividade da G-POD foi apenas detectada nas raízes (Figura 11 C), e a salinidade, sob condições controle de oxigenação, não alterou significativamente a atividade dessa enzima; entretanto, a alta oxigenação aumentou a atividade da G-POD em 107% a 0 e 40 mM de NaCl, em relação ao controle ($\pm 5,5$ ppm de OD) (Figura 11 C). A baixa oxigenação nos níveis de 40 e 80 mM de NaCl aumentou a atividade da G-POD em 120%, em relação ao controle (Figura 11 C).

A atividade da CAT foi apenas detectada nas folhas (Figura 11 D), e qualquer alteração dos níveis de oxigenação da solução de cultivo reduziu em cerca de 40% a atividade dessa enzima até 40 mM de NaCl, mas a 80 mM de NaCl a baixa oxigenação aumentou a atividade da CAT em 40%, em relação ao controle (Figura 11 D).

Houve interação significativa entre os fatores salinidade e oxigenação para a atividade enzimática da APX e os teores de ascorbato total, nas folhas e raízes, enquanto que para o teor de ascorbato reduzido (AsA) a interação se deu apenas nas folhas e para o estado redox do ascorbato apenas nas raízes (Tabela 9).

Tabela 9 – Resumo do quadro de ANOVA para a atividade enzimática da APX, os teores de ascorbato reduzido (AsA) e ascorbato total (AsA + MDHA + DHA) e estado redox do ascorbato nas folhas e raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio			
		Raízes			
		APX	AsA	Ascorbato total	Estado Redox do ascorbato
Oxigenação (O)	2	557521*	113,2**	15421**	142,6**
Salinidade (S)	2	815172**	46,69**	191,2 ^{ns}	38*
O x S	4	815575**	13,30 ^{ns}	1092,63**	49,9**
O / 0 mM de NaCl	2	110235 ^{ns}	-	5587,6**	121,87**
O / 40 mM de NaCl	2	1529979**	-	8945,4**	78,07**
O / 80 mM de NaCl	2	548457*	-	3073,2**	42,44*
S/ $< 3,5$ ppm OD	2	1438528**	-	1013,7*	16,53 ^{ns}
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	948128**	-	87,91 ^{ns}	32,65*
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	59665,8 ^{ns}	-	1274,8*	88,55**
Resíduo	27	111132,44	5,80	254,36	8,69
CV (%)		18,66	16,07	17,52	15,87
Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio			
		Folhas			
		APX	AsA	Ascorbato total	Estado Redox do ascorbato
Oxigenação (O)	2	4012,3**	349,8**	93,03 ^{ns}	429**
Salinidade (S)	2	665,37**	82,3 ^{ns}	118,16 ^{ns}	369,1**
O x S	4	349,5**	121,6*	551,5*	141,15 ^{ns}
O / 0 mM de NaCl	2	250,7**	502,9**	800,4*	-

O / 40 mM de NaCl	2	2110,1 ^{**}	87,2 ^{ns}	266,2 ^{ns}	-
O / 80 mM de NaCl	2	2350,6 ^{**}	2,7 ^{ns}	129,4 ^{ns}	-
S/ < 3,5 ppm OD	2	38 ^{ns}	8,9 ^{ns}	55,54 ^{ns}	-
S/ ±5,5 ppm OD	2	1318,4 ^{**}	59 ^{ns}	837,7 [*]	-
S/ ±7,5 ppm OD	2	8,08 ^{ns}	257,5 ^{**}	327,9 ^{ns}	-
Resíduo	27	24,97	42,57	157,33	63,18
CV (%)		19,13	16,51	21,43	11,56

* p < 0,05; ** p < 0,01; ns p > 0,05

A atividade da APX nas raízes das plantas de arroz apresentou um significativo aumento de 92% sob salinidade com NaCl a 40 mM e baixa oxigenação, e de 71% sob salinidade com NaCl a 80 mM de NaCl e oxigenação controle (Figura 11E). Nas folhas, alterações na oxigenação provocaram redução na atividade da APX, independentemente, do nível de salinidade. Por outro lado, sob condições normais de oxigenação, a salinidade provocou aumento de cerca de 120% na atividade da APX nas doses de 40 e 80 mM de NaCl (Figura 11E).

Nas raízes, a baixa oxigenação reduziu o teor de ascorbato reduzido (AsA), enquanto, a salinidade com NaCl a 80 mM aumentou o teor de AsA nas raízes, em relação ao controle (Figura 12A). A alta oxigenação, na ausência de salinidade, aumentou o teor de AsA em 74% nas folhas, mas este aumento foi reduzido sob salinidade com NaCl a mM, porém com 80 mM de NaCl não houve diferença significativa entre os níveis de oxigenação (Figura 12B). O teor de ascorbato total foi reduzido por qualquer alteração da oxigenação controle em quase todas as condições de salinidade, mas não sofreu qualquer alteração significativa pela ação da salinidade quando as plantas estavam sob oxigenação controle (Figura 12C). O teor de ascorbato total, nas folhas, foi aumentado pela alta da oxigenação na ausência de salinidade (Figura 12D). O estado redox do ascorbato nas raízes foi maior sob baixa oxigenação em todos níveis de salinidade, enquanto que no tratamento com NaCl a 80 mM, em condição controle de oxigenação, também houve aumento do estado redox do ascorbato (Figura 12E). A salinidade com NaCl a 80 mM reduziu o estado redox do ascorbato, nas folhas, enquanto que qualquer alteração na oxigenação controle ($\pm 5,5$ ppm de OD) aumentou o estado redox do ascorbato, nas raízes (Figura 12F).

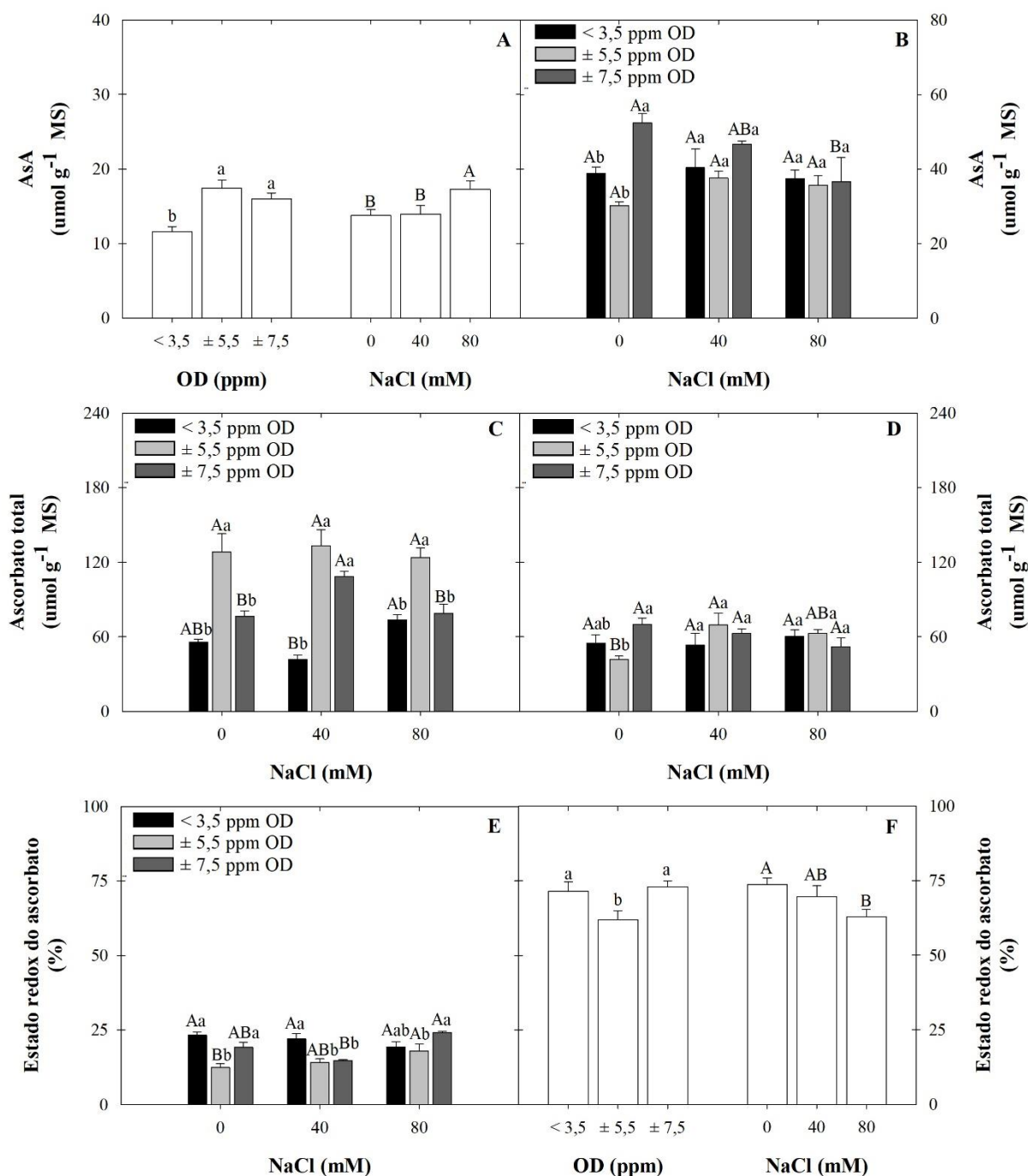


Figura 12 – Teores de AsA nas raízes (A) e nas folhas (B), de ascorbato total nas raízes (C) e nas folhas (D), e o estado redox do ascorbato nas raízes (E) e nas folhas (F) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5, \pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

O acompanhamento dos efeitos dos fatores salinidade e oxigenação sobre os teores de glutaciona mostrou que houve uma interação significativa desses fatores apenas para o teor de glutaciona reduzida (GSH), nas raízes (Tabela 10). Assim, o teor de GSH, nas folhas, não foi afetado pelos tratamentos a que as plantas foram submetidas e os teores de glutaciona total e

seu estado redox, nas raízes e folhas, foram afetados pelos fatores salinidade e oxigenação de modo independente.

Tabela 10 – Resumo do quadro de ANOVA para teor de glutatona reduzida (GSH), glutatona total e estado redox da glutatona nas folhas e raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio		
		Raízes		
		GSH	Glutaciona total	Estado Redox da glutaciona
Oxigenação (O)	2	0,47 ^{ns}	91,38*	431,32**
Salinidade (S)	2	3,61**	115,68*	985,37**
O x S	4	3,23**	27,72 ^{ns}	96,81 ^{ns}
O / 0 mM de NaCl	2	2,05*	-	-
O / 40 mM de NaCl	2	4,39**	-	-
O / 80 mM de NaCl	2	0,49 ^{ns}	-	-
S/ $< 3,5$ ppm OD	2	7,08**	-	-
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	1,96 ^{ns}	-	-
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	1,02 ^{ns}	-	-
Resíduo	27	0,562	21,22	44,37
CV (%)		34,82	34,73	33,10

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio		
		Folhas		
		GSH	Glutaciona total	Estado Redox da glutaciona
Oxigenação (O)	2	3,63 ^{ns}	55,9*	388,71**
Salinidade (S)	2	4,06 ^{ns}	126,9**	1747,7**
O x S	4	0,93 ^{ns}	6,9 ^{ns}	20,85 ^{ns}
O / 0 mM de NaCl	2	-	-	-
O / 40 mM de NaCl	2	-	-	-
O / 80 mM de NaCl	2	-	-	-
S/ $< 3,5$ ppm OD	2	-	-	-
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	-	-	-
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	-	-	-
Resíduo	27	2,51	12,74	26,97
CV (%)		26,24	23,02	12,57

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

Nas raízes, o teor de GSH foi aumentado em 70% pela baixa oxigenação na ausência de salinidade, mas este teor foi diminuído com o aumento da salinidade a ponto de não haver diferença significativa entre os teores de GSH em diferentes oxigenações sob salinidade com NaCl a 80 mM (Figura 13A). Enquanto que nas folhas, o teor de GSH não foi alterado pelos tratamentos aos quais as plantas de arroz foram submetidas (Figura 13B).

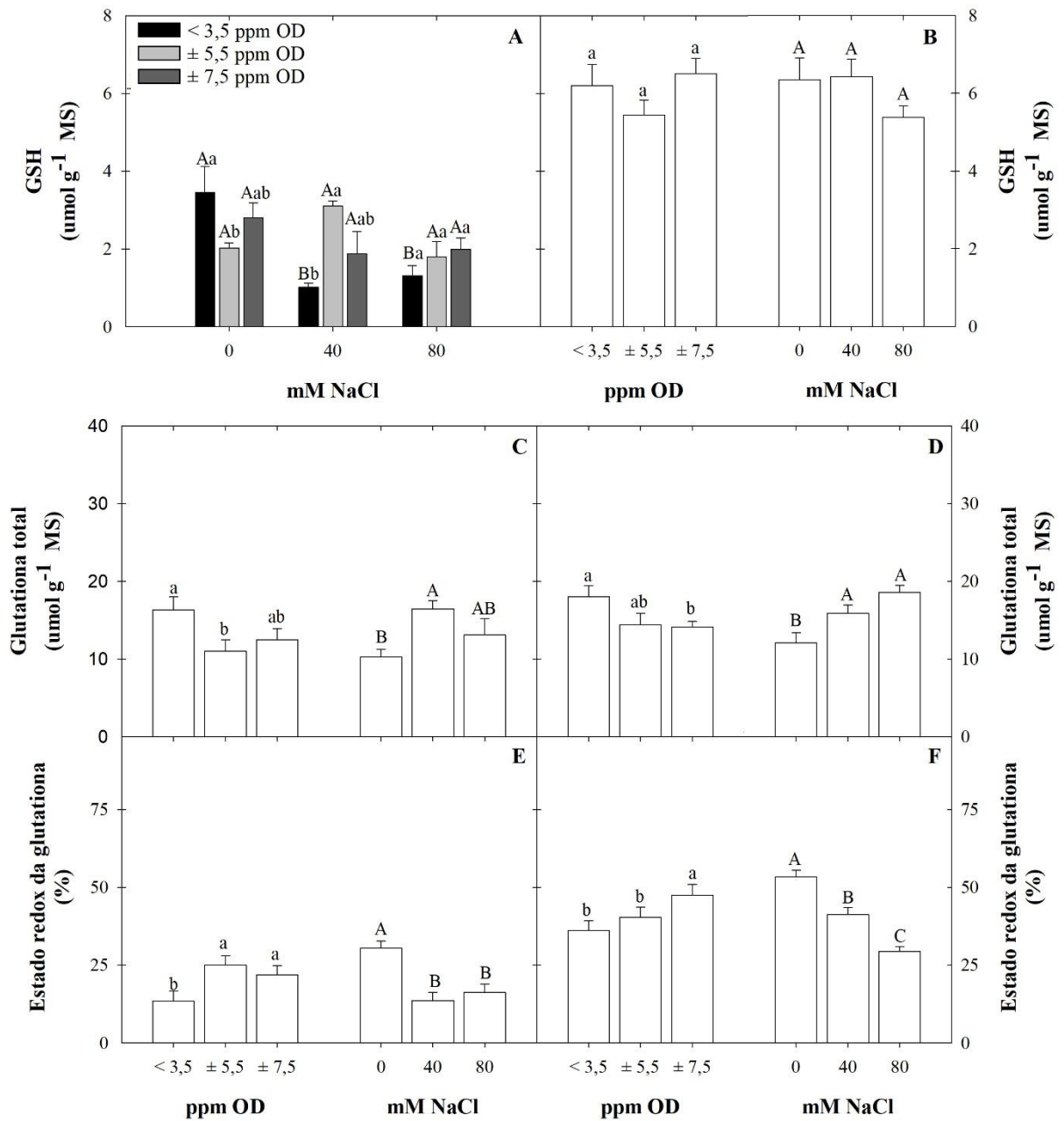


Figura 13 – Teores de GSH nas raízes (A) e nas folhas (B), de GSH + GSSG nas raízes (C) e nas folhas (D), e o estado redox da glutationa nas raízes (E) e nas folhas (F) de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

Nas raízes, o teor de glutathione total foi aumentado pela baixa oxigenação ou pela salinidade com NaCl a 40 mM (Figura 13C). No entanto, o teor de glutathione total, nas folhas, foi aumentado pela baixa oxigenação ou pela salinidade (Figura 13D). Por outro lado, o estado redox da glutathione, nas raízes, foi reduzido pela baixa oxigenação ou pela salinidade (Figura 13E), enquanto o estado redox da glutathione nas folhas foi aumentado pela alta oxigenação e reduzido pela salinidade (Figura 13F).

O teor de lignina nas raízes das plantas de arroz foi afetado apenas pela oxigenação do meio, de modo que houve diferença significativa para o teor de lignina sob baixa oxigenação ($25,1 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) e alta oxigenação ($28,9 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$), mas estes teores de lignina não diferiram estatisticamente do teor de lignina sob oxigenação controle ($27,1 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) (Tabela 11; Figura 14).

Tabela 11 – Resumo do quadro de ANOVA para o teor de lignina nas raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5, \pm 5,5 \pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio Lignina
Oxigenação (O)	2	43,904**
Salinidade (S)	2	2,929 ^{ns}
O x S	4	12,784 ^{ns}
Resíduo	27	6,169
CV (%)		9,19

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

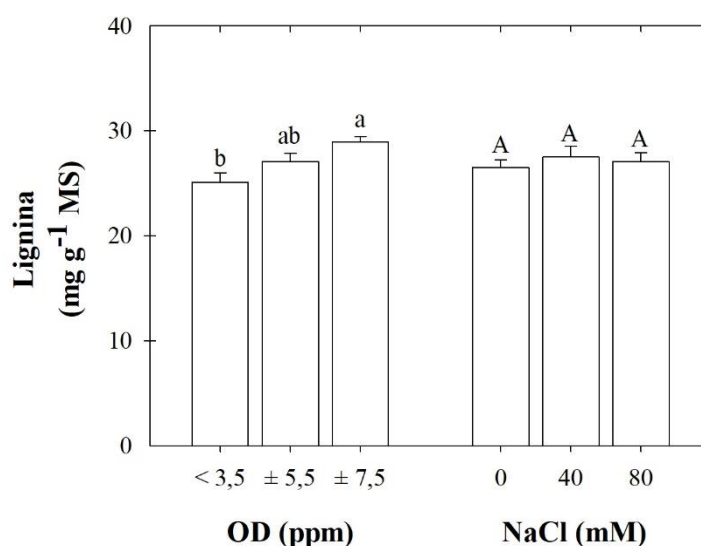


Figura 14 – Teor de lignina nas raízes de plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5, \pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0, 40 e 80 mM de NaCl). As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade.

4.2 Experimento II - Fase de pré-perfilhamento

Houve interação significativa entre os fatores salinidade e oxigenação da solução nutritiva para as variáveis: conteúdo de água nas folhas, teor de lignina nas raízes, área foliar e comprimento da raiz aos 5 e 10 DAT, sendo que para o comprimento da parte aérea houve interação significativa apenas aos 5 DAT (Tabela 12).

Tabela 12 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis conteúdo de água das folhas (CAF), teor de lignina nas raízes, área foliar (AF), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR) aos 5 e 10 dias da aplicação dos tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0 e 80 mM de NaCl)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio				
		5 dias				
		CAF	Lignina	AF	CPA	CR
Oxigenação (O)	2	35965,9**	2302,7**	7,41**	87,79**	35,65**
Salinidade (S)	1	600862,6**	626,28**	30,46**	1053,3**	12,76*
O x S	2	18737,7**	1251,6**	1,48**	64,12**	18,57**
O / 0 mM de NaCl	2	52867,3**	96,16**	6,58**	145,33**	10,64*
O / 80 mM de NaCl	2	1836,3 ^{ns}	3457,9**	2,05**	6,58 ^{ns}	43,58**
S/ < 3,5 ppm OD	1	93837,6**	254,47**	3,94**	128**	28,12**
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	1	335990,9**	2838,8**	19,5**	741,12**	13,78*
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	1	208509,4**	36,21**	10,03**	312,5**	8,00 ^{ns}
Resíduo	18	1038,20	1,3635	0,19	10,48	2,89
CV (%)		12,65	4,54	12,87	11,79	10,58

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio				
		10 dias				
		CAF	Lignina	AF	CPA	CR
Oxigenação (O)	2	1345701,3**	63,70**	541,2**	519,5**	495,87**
Salinidade (S)	1	11101571,6**	59,50**	4178**	2667,04**	12,04 ^{ns}
O x S	2	645999,9**	285,97**	249,8**	12,16 ^{ns}	26,54*
O / 0 mM de NaCl	2	1900792,5**	134,44**	715,1**	-	220,08**
O / 80 mM de NaCl	2	90908,8**	215,23**	75,85**	-	302,33**
S/ < 3,5 ppm OD	1	995326,5**	2,497 ^{ns}	372,9**	-	0,125 ^{ns}
S/ $\pm 5,5$ ppm OD	1	5443251**	74,17**	2389**	-	60,5**
S/ $\pm 7,5$ ppm OD	1	5954993,8**	554,77**	1915**	-	4,5 ^{ns}
Resíduo	18	3623	3,2590	8,30	9,40	6,71
CV (%)		6,59	8,59	15,68	7,94	12,71

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

A baixa oxigenação impactou negativamente no conteúdo de água das folhas durante o crescimento das plantas de arroz, entretanto a salinidade (NaCl a 80 mM) reduziu muito mais o valor dessa variável aos 5 e 10 DAT (Figura 15A, B). Aos 10 DAT, observou-se uma melhoria no conteúdo de água das folhas das plantas de arroz sob alta oxigenação na ausência ou presença de salinidade (Figuras 15B).

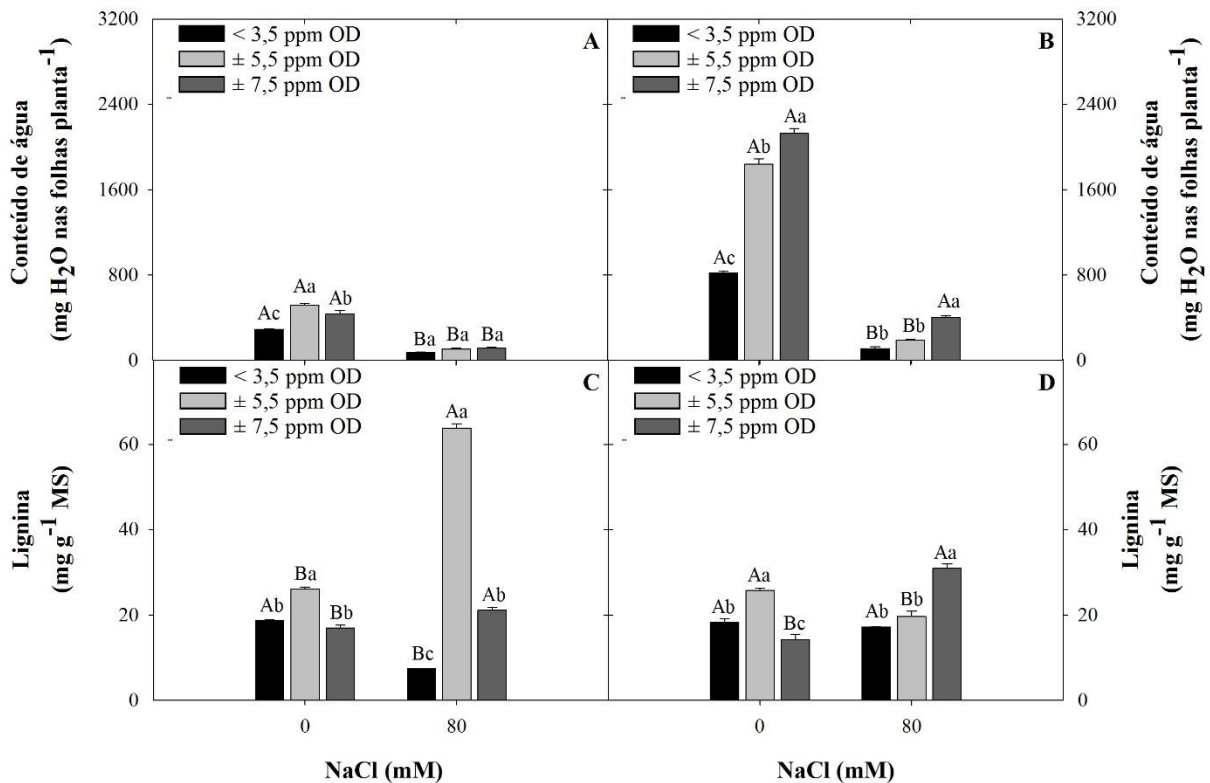


Figura 15 – Conteúdo de água das folhas (CAF) aos 5 (A) e 10 (B) dias e teor de lignina nas raízes aos 5 (C) e 10 (D) dias de aplicação de tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0 e 80 mM de NaCl). As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

Na ausência de salinidade, qualquer alteração na oxigenação controle ($\pm 5,5$ ppm de OD) provocou redução no teor de lignina, tanto aos 5 como aos 10 DAT, sob condição controle de salinidade (Figura 15C, D). A salinidade provocou um grande acúmulo de lignina momentâneo nas raízes de arroz sob oxigenação controle tendo em vista que aos 10 DAT este efeito não se manteve como observado aos 5 DAT (Figura 15C, D).

Na ausência de salinidade, a baixa oxigenação provocou reduções na área foliar, comprimento da parte aérea e das raízes desde os 5 DAT (Figura 16). Não houve nenhuma contribuição positiva do aumento da oxigenação da solução nutritiva aos 5 DAT, mas aos 10 DAT esta condição contribuiu para uma maior área foliar e comprimento radicular em plantas sob salinidade (Figura 16B, F). O impacto negativo da salinidade sobre a área foliar e comprimento da parte aérea e das raízes já pôde ser observado aos 5 DAT assim como o efeito negativo da baixa oxigenação, contudo estas respostas fisiológicas ficaram ainda mais notáveis aos 10 DAT (Figura 16).

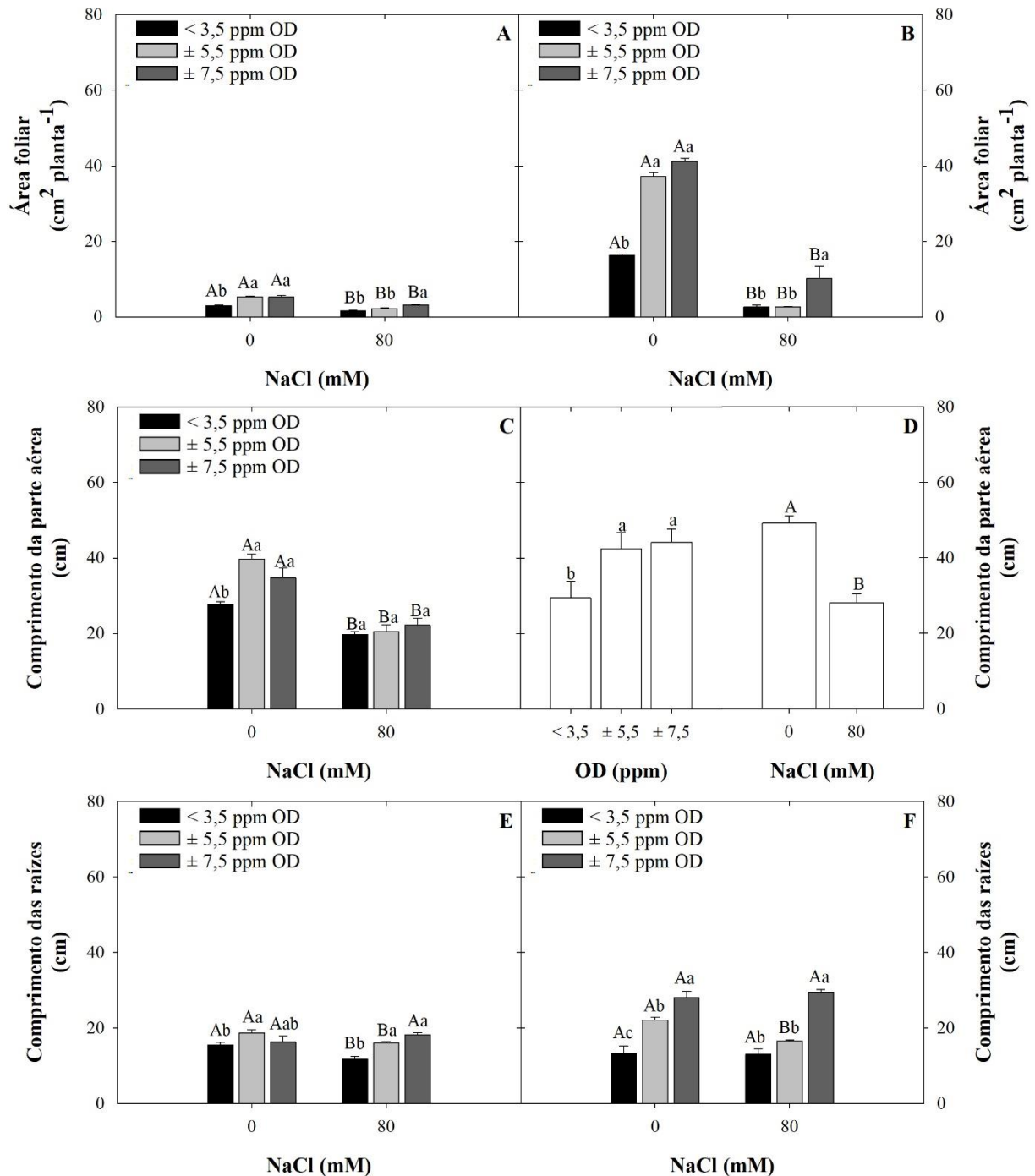


Figura 16 – Área foliar aos 5 (A) e 10 (B) dias, comprimento da parte aérea aos 5 (C) e 10 (D) dias e comprimento da raiz aos 5 (E) e 10 (F) dias de aplicação de tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] e salinidade (0 e 80 mM de NaCl). Para os gráficos das variáveis sem interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade. Para os gráficos das variáveis com interação dos tratamentos significativa a 5%, as letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tratamento de salinidade e as letras maiúsculas os tratamentos de salinidade dentro de cada tratamento de oxigenação.

Aos 15 DAT não foi possível avaliar interações entre a salinidade e a oxigenação porque a salinidade com NaCl a 80 mM provocou a morte de todas as plantas de arroz por volta do décimo segundo DAT. Entretanto, como as plantas dos tratamentos controle para salinidade apresentavam-se vivas foi realizada uma análise comparativa dos tratamentos de oxigenação

aos 5, 10 e 15 DAT, que revelou interação significativa entre a oxigenação e o tempo de aplicação do tratamento de oxigenação para todas as variáveis analisadas (Tabela 13).

Tabela 13 – Resumo do quadro de ANOVA para as variáveis área foliar (AF), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CMR), número de perfilhamento (N°PER), conteúdo de água das folhas (CAF) e teor de lignina nas raízes nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)] em três tempos de coleta (5, 10 e 15 dias)

Fonte de variação	G.L.	Quadrado Médio					
		AF	CPA	CR	N°PER	CAF	Lignina
Oxigenação (O)	2	14978**	821,52**	496,8**	13,52**	19E ⁶ **	240,9**
Tempo (T)	2	66429,9**	2045,4**	132,5**	54,19**	84E ⁶ **	4,84 ^{ns}
O x T	4	9864,1**	43,36**	120**	4,15**	10E ⁶ **	50,2**
O/ 5 dias	2	6,85 ^{ns}	145,33**	10,65 ^{ns}	0,0 ^{ns}	52867 ^{ns}	96,16**
O/ 10 dias	2	715 ^{ns}	225,58**	220,1**	6,58**	19E ⁵ ^{ns}	134,44**
O/ 15 dias	2	33985**	537,33**	506,1**	15,25**	38E ⁶ **	110,7**
T/ $< 3,5$ ppm OD	2	32039**	973**	310,58**	30,33**	45E ⁶ **	78,15**
T/ $\pm 5,5$ ppm OD	2	52610,9**	784**	43,89**	28,33**	56E ⁶ **	4,71*
T/ $\pm 7,5$ ppm OD	2	1507,6 ^{ns}	375,1**	18,69 ^{ns}	4,08**	28E ⁵ *	22,38**
Resíduo	27	622,14	9,66	7,69	0,75	73E ⁴	1,85
CV (%)		41,36	6,51	13,59	40,49	34,36	6,76

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns $p > 0,05$

Uma comparação dos tratamentos de oxigenação ao longo dos dias permitiu inferir que a área foliar, o comprimento da parte aérea, o perfilhamento e conteúdo de água das folhas foram menores em plantas que estavam sob baixa oxigenação a partir de 10 DAT, em relação ao controle (Figura 17A-D). Deste modo, aos 5 DAT, não foi observado efeito prejudicial com a mudança de oxigenação sobre essas variáveis de crescimento vegetal, com exceção do comprimento da parte aérea que foi reduzido sob baixa oxigenação desde os 5 DAT (Figura 17B).

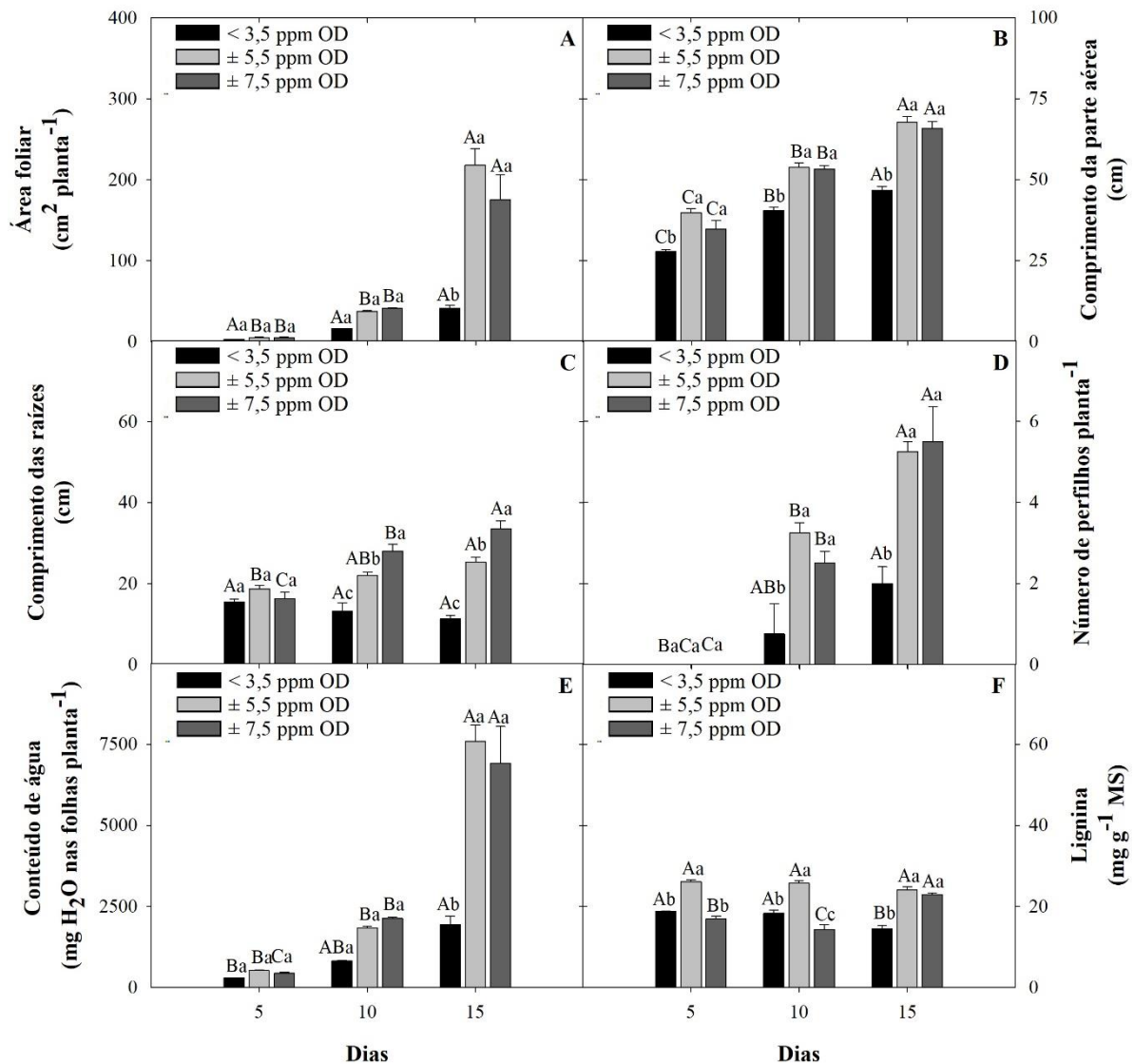


Figura 17 – Área foliar (A), comprimento da parte aérea (B) e comprimento das raízes (C), número de perfilhos (D), conteúdo de água das folhas (E) e teor de lignina (F) aos 5, 10 e 15 dias de aplicação de tratamentos nas plantas de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5$, $\pm 5,5$ e $\pm 7,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)]. As letras minúsculas comparam os tratamentos de oxigenação dentro de cada tempo de coleta e as letras maiúsculas os tempos de coleta dentro de cada tratamento de oxigenação.

Apesar da tendência geral de aumento da área foliar, do comprimento da parte aérea e das raízes, do número de perfilhos e do conteúdo de água das folhas observado nas plantas de arroz ao longo dos dias (Figura 17A-E), observou-se que a área foliar e o comprimento de raiz de plantas sob baixa oxigenação se manteve similar em todos os dias de coleta (Figura 17A, C).

O teor de lignina das plantas sob oxigenação controle ($\pm 5,5$ ppm de OD) se manteve constante ao longo dos dias, porém as demais condições de oxigenação provocaram redução do teor de lignina, exceto o tratamento de alta oxigenação no 15^o DAT que apresentou teor de lignina semelhante àquele da condição controle (Figura 17F).

Observou-se ainda que as plantas sob baixa oxigenação apresentaram redução do crescimento longitudinal da parte aérea nos três tempos de coleta, resultando em plantas cerca de 31% menores do que aquelas, sob oxigenação controle, e com a mesma idade (Figura 17B).

Além disso, a partir de 5 DAT, a alta oxigenação resultou em um maior crescimento longitudinal das raízes, com aumento de 18%, mas em contrapartida a baixa oxigenação provocou alteração morfológica e redução de 42% no crescimento longitudinal das raízes (Figuras 17C). Na figura 18A são apresentadas imagens das plantas de arroz após 15 DAT, nos três tratamentos de oxigenação, destacando as reduções da área foliar, bem como do comprimento da parte aérea e de raízes sob baixa oxigenação. As raízes apresentaram um encurtamento drástico e, em sua maioria, eram do tipo adventícia (Figura 18B).

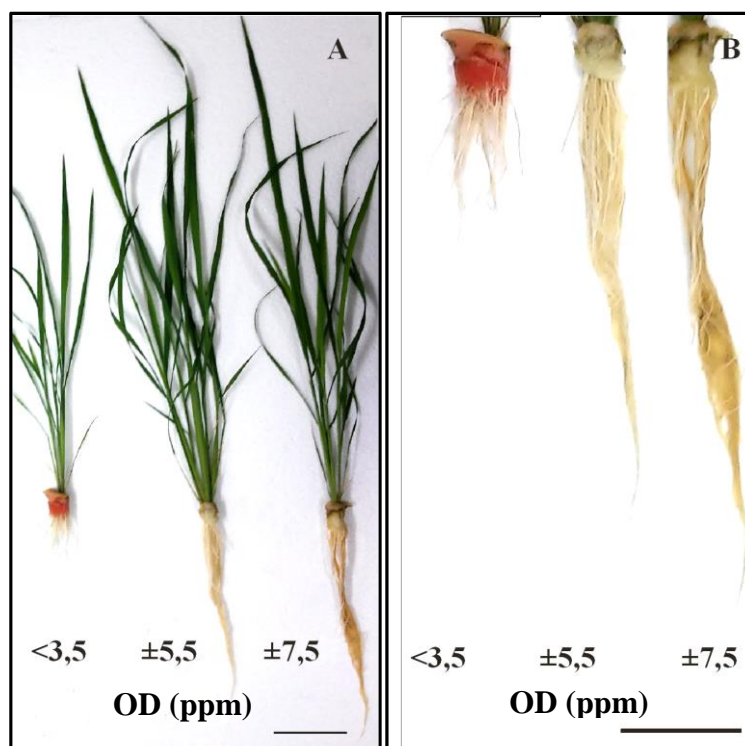
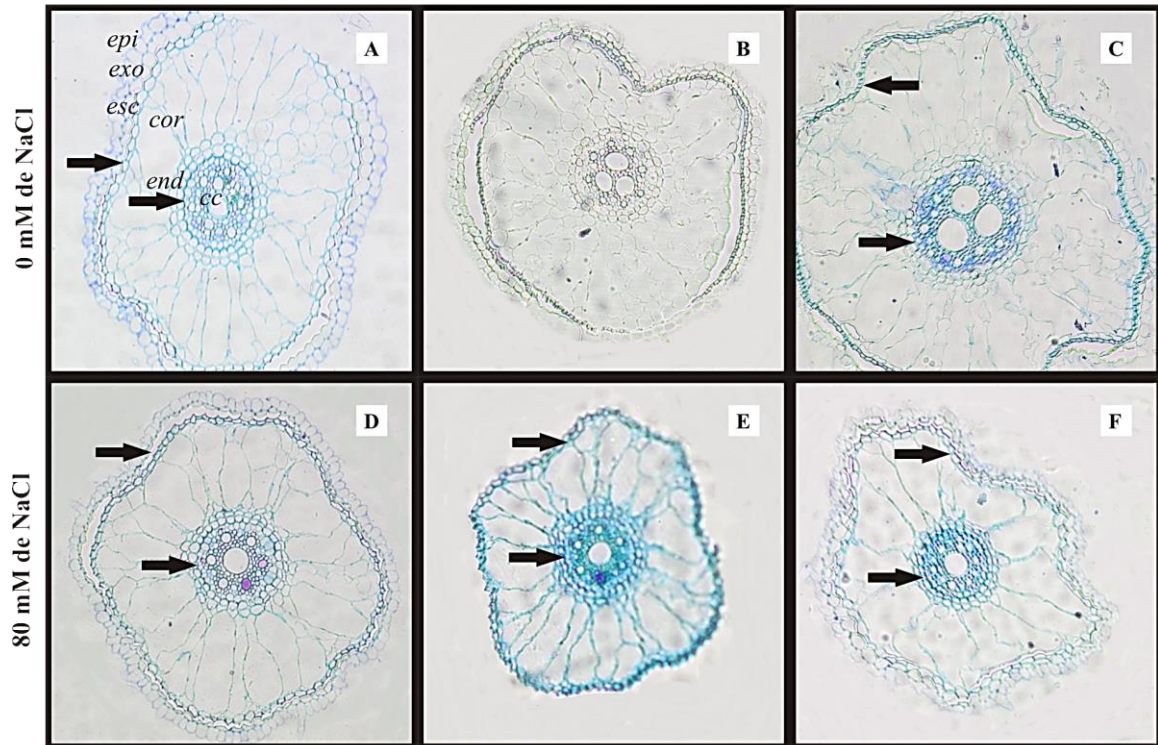


Figura 18 – Imagem das plantas (A) e raízes (B) de arroz cv. SCSBRS 113 submetidas aos tratamentos de oxigenação [$< 3,5, \pm 5,5</math> e $\pm 7,5</math> ppm de oxigênio dissolvido (OD)] aos 15 dias de aplicação de tratamentos. Barras da escala correspondem a 10 cm.$$

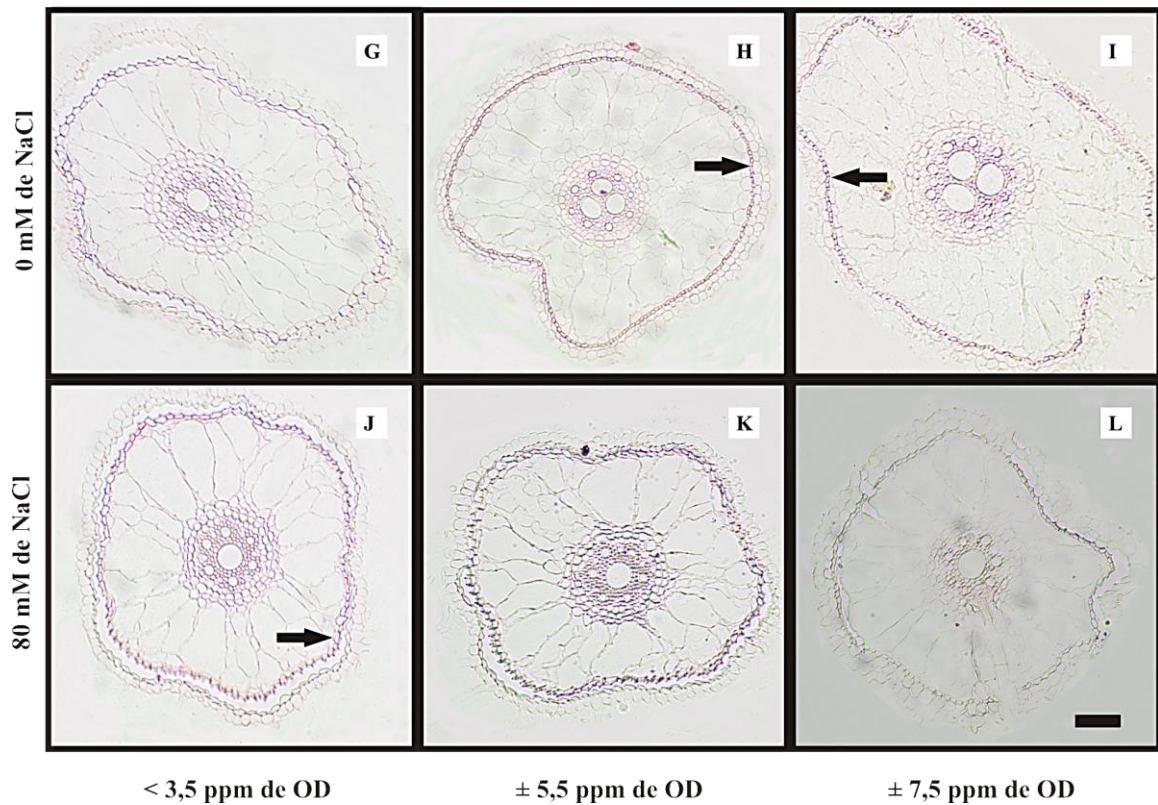
Aos 5 DAT, a deposição de pectina foi escassa nas raízes sob oxigenação controle, mostrou-se mais concentrado na endoderme e no esclerênquima sob baixa e alta oxigenação (Figura 19A, B, C). Em raízes crescendo em ambiente salino, a deposição de pectina foi bastante evidente na endoderme e no esclerênquima de todos os tratamentos de oxigenação, porém foi bem mais intensa sob oxigenação controle (Figura 19D, E, F).

Aos 5 DAT, a formação de barreiras contra as perdas radiais de oxigênio (ROL) pela deposição de suberina e/ou lignina foi concentrada no esclerênquima das raízes sob oxigenação controle e alta oxigenação, mas o mesmo não ocorreu com a mesma intensidade das raízes sob baixa oxigenação (Figura 19G, H, I). Entretanto a salinidade inverteu completamente este padrão de formação de barreiras à ROL (Figura 19J, K, L).

Azul de toluidina



Safranina



<math>< 3,5</math> ppm de OD

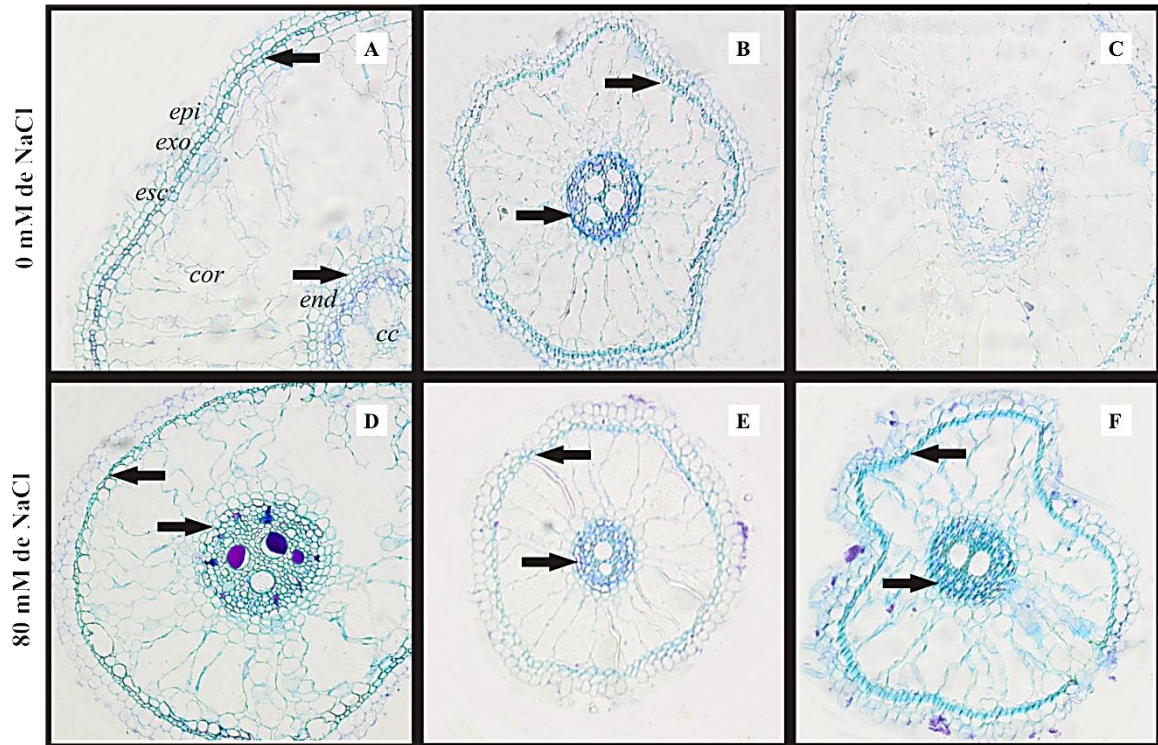
 $\pm 5,5$ ppm de OD $\pm 7,5$ ppm de OD

Figura 19 – Cortes transversais de raízes de plantas de arroz aos 5 dias após aplicação dos tratamentos na ausência de salinidade e na oxigenação de: <math>< 3,5</math> (A, G); $\pm 5,5$ (B, H); $\pm 7,5$ (C, I) ppm de oxigênio dissolvido (OD), e na presença de salinidade (80 mM de NaCl) e na oxigenação de: <math>< 3,5</math> (D, J); $\pm 5,5$ (E, K); $\pm 7,5$ (F, L) ppm de OD, corados com azul de toluidina e safranina. Epiderme (*epi*), exoderme (*exo*), esclerênquima (*esc*), córtex (*cor*), endoderme (*end*) e cilindro central (*cc*). As setas (\blackrightarrow) indicam locais de coloração mais intensa. Barra de escala (\blacksquare) = 100 μ m.

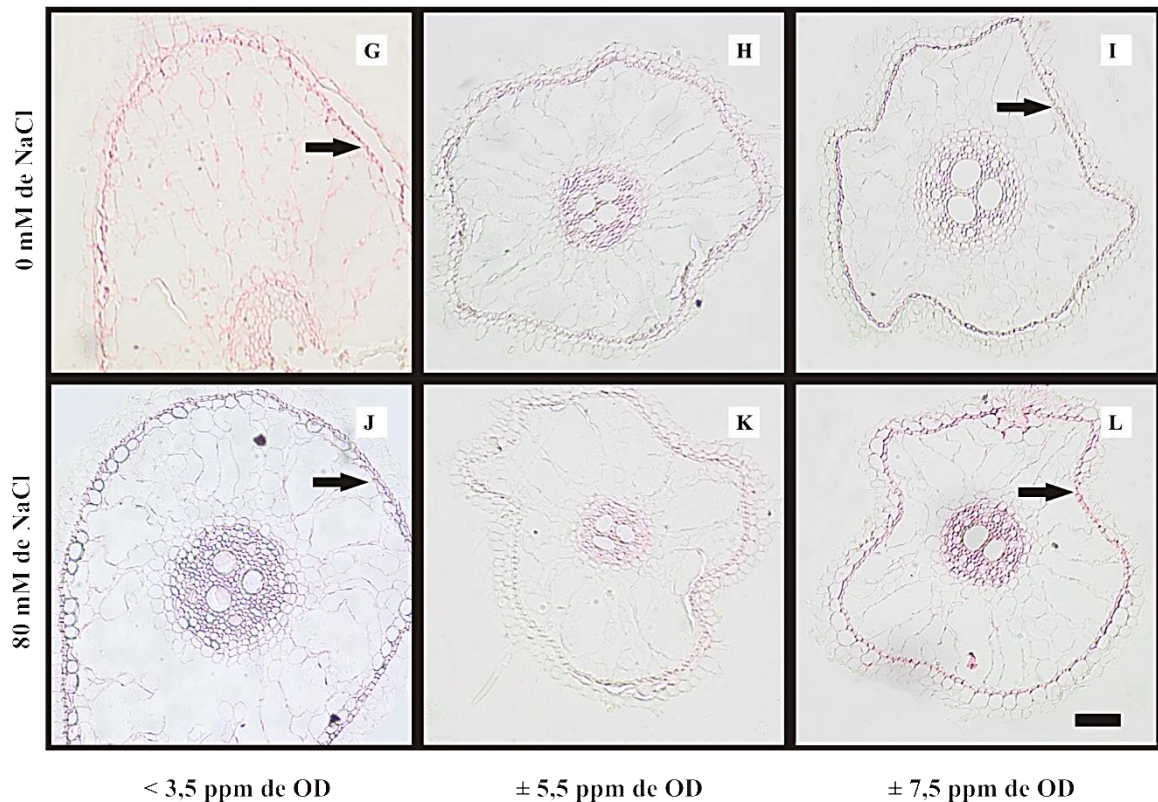
Aos 10 DAT, todos os tratamentos, com exceção apenas do tratamento com alta oxigenação sem salinidade, apresentaram deposição de pectina no esclerênquima e na endoderme das raízes (Figura 20). As células do esclerênquima mostraram-se pouco coloridas com azul de toluidina e bem esparsas sob alta oxigenação na ausência de salinidade (Figura 20B).

Aos 10 DAT, a formação de barreiras à ROL pela deposição de suberina e/ou lignina, foi mais concentrada no esclerênquima das raízes de plantas de arroz sob baixa e alta oxigenação, independente do tratamento salino (Figura 20G - L).

Azul de toluidina



Safranina



<math>< 3,5</math> ppm de OD

 $\pm 5,5$ ppm de OD $\pm 7,5$ ppm de OD

Figura 20 - Cortes transversais de raízes de plantas de arroz aos 10 dias após aplicação dos tratamentos na ausência de salinidade e na oxigenação de: <math>< 3,5</math> (A, G); $\pm 5,5$ (B, H); $\pm 7,5$ (C, I) ppm de oxigênio dissolvido (OD), e na presença de salinidade (80 mM de NaCl) e na oxigenação de: <math>< 3,5</math> (D, J); $\pm 5,5$ (E, K); $\pm 7,5$ (F, L) ppm de OD, corados com azul de toluidina e safranina. Epiderme (*epi*), exoderme (*exo*), esclerênquima (*esc*), córtex (*cor*), endoderme (*end*) e cilindro central (*cc*). As setas (\blackrightarrow) indicam locais de coloração mais intensa. Barra de escala (\blacksquare) = 100 μ m.

Aos 15 DAT, a deposição de pectina concentra-se no esclerênquima e na endoderme das raízes sob qualquer tratamento de oxigenação (Figura 21A, B, C). Além disso, formação de barreiras à ROL foi observada no esclerênquima das raízes de plantas de arroz sob baixa e alta oxigenação (Figura 21D, E, F).

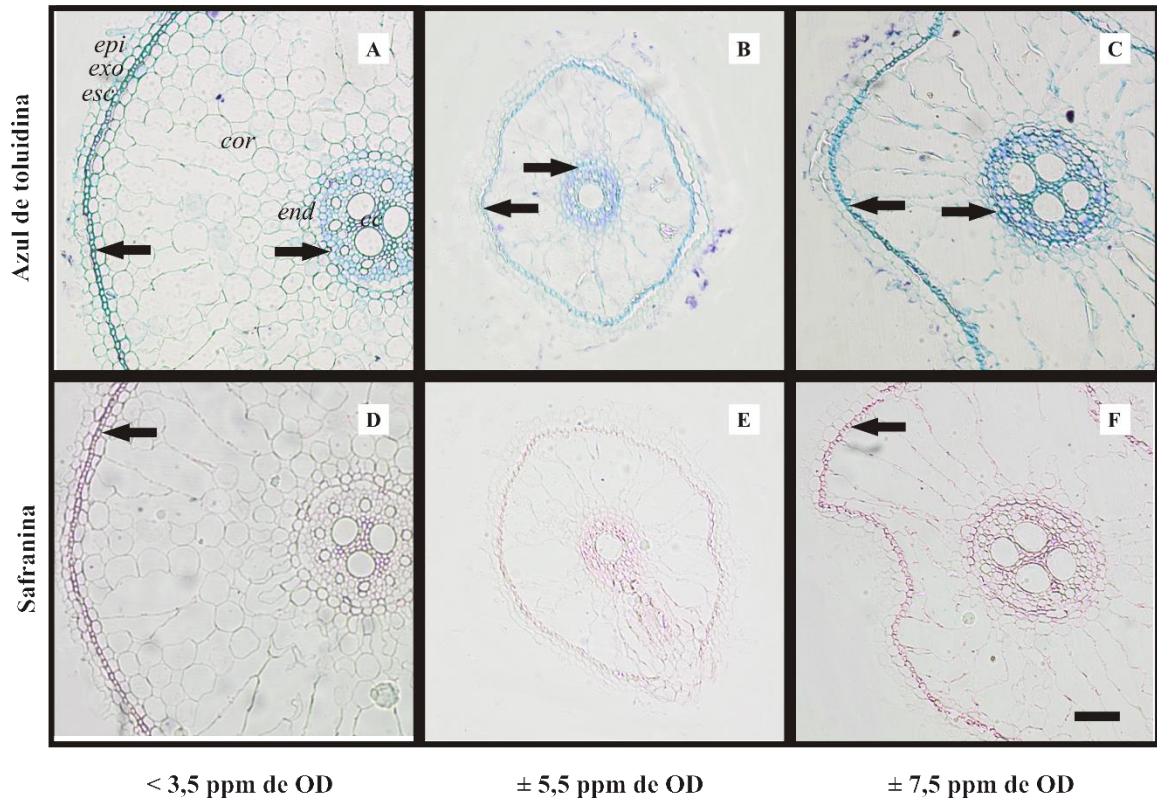


Figura 21- Cortes transversais de raízes de plantas de arroz aos 15 dias após aplicação dos tratamentos na ausência de salinidade e na oxigenação de: <math>< 3,5</math> (A, D); $\pm 5,5$ (B, E); $\pm 7,5$ (C, F) ppm de oxigênio dissolvido (OD) corados com azul de toluidina e safranina. Epiderme (epi), exoderme (exo), esclerênquima (esc), córtex (cor), endoderme (end) e cilindro central (cc). As setas (➔) indicam locais de coloração mais intensa. Barra de escala (■) = 100 μ m.

Outras alterações morfológicas foram também observadas em cortes transversais das raízes de arroz entre 35-40 mm do ápice radicular, corados com azul de toluidina. Estes cortes de raízes, sob oxigenação controle, mostraram a tendência de redução de diâmetro das raízes ao longo dos dias de tratamento (Figuras 19B, 20B, 21B), enquanto que houve aumento de diâmetro radicular tanto sob baixa oxigenação (Figuras 19A, 20A, 21A) quanto sob alta oxigenação (Figuras 19C, 20C, 21C). Além disso, pôde-se observar diferenças na abundância de pectina e na deposição de suberina e/ou lignina nas paredes das células do esclerênquima ao longo dos dias de aplicação dos tratamentos (Figuras 19, 20, 21).

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliou-se como a concentração de oxigênio molecular na zona radicular influencia no crescimento e na fotossíntese das plantas de arroz sob estresse salino, bem como na formação das barreiras contra a perda radial de oxigênio (ROL) nas raízes e no metabolismo do sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático. É importante

destacar que para esse estudo, desenvolveu-se uma metodologia usando o metabissulfito de sódio como agente redutor, o qual diminui a concentração de oxigênio molecular na solução de cultivo das plantas, gerando condições de hipóxia mais severa. A aplicação do metabissulfito de sódio como agente redutor foi realizada na mesma proporção em todos os tratamentos, mas nos tratamentos com oxigenação maior que 3,5 ppm sua aplicação foi realizada 2 dias antes da troca das soluções nutritivas, deste modo os efeitos das condições de oxigenação radicular não podem ser confundidos com os possíveis efeitos residuais do $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$.

5.1 Crescimento e desenvolvimento de arroz: estresse salino x hipóxia

Em arroz, assim como em outras espécies vegetais adaptadas a condições de alagamento, a formação de aerênquimas lisígenos é imprescindível à sobrevivência (HAQUE *et al.*, 2010; RAJHI *et al.*, 2011). Também, outra adaptação comum em arroz cultivado em ambiente com baixa disponibilidade de O_2 , como é o caso dos solos alagados, e que tem sido bem documentada é a formação das barreiras contra a perda radial de oxigênio (ROL), as quais são formadas desde a base das raízes e se estendem até bem próximo do ápice delas (COLMER *et al.*, 1998; RANATHUNGE *et al.*, 2011; KOTULA *et al.*, 2009). Apesar dessas adaptações a ambientes com pouca oxigenação [$\pm 5,5$ ppm de oxigênio dissolvido (OD)], observou-se no presente estudo que o agravamento desta condição ($\text{OD} < 3,5$ ppm) induziu reduções no número de perfilhos, no acúmulo de massa seca, na área foliar e no crescimento longitudinal, tanto da parte aérea quanto das raízes (Figura 1). Essa redução no crescimento das plantas de arroz pode ser atribuída em muito à grande redução na taxa de assimilação líquida do carbono, em decorrência da redução da condutância estomática e consequente redução da relação Ci/Ca (Figura 2A, B, D). O mesmo ocorreu em outras espécies adaptadas a áreas alagadas, como *Hoderum vulgare*, *Critesion marinum* e *Echinochloa crus-galli* L., que também apresentaram perdas consideráveis na massa seca das raízes e parte aérea, além de um encurtamento radicular quando comparadas a seus cultivos em solo drenado e solo alagado (com restrição de oxigênio) (MCDONALD *et al.*, 2001). Sob condições alagadas é comum reduções na condutância estomática e na taxa de fotossíntese, como observado em planta de mamona (ELSE *et al.*, 2001), e estas respostas fisiológicas, dentre outras, são apontadas por alguns autores como respostas fisiológicas ao alagamento que se assemelham às observadas sob seca (PANG *et al.*, 2004; POLACIK; MARICLE, 2013).

Em plantas sob condições de baixa oxigenação, como em solos alagados, são muito comuns o encurtamento radicular e a formação de raízes adventícias, fato que tem sido observado em *Critesion marinum* (MCDONALD *et al.*, 2001), arroz (MAILK *et al.*, 2001; LARSEN *et al.*, 2015) e outros cereais como trigo, milho e cevada (COLMER; GREENWAY, 2011). Esse processo adaptativo, juntamente com a formação de aerênquimas, tem por

finalidade suprir com maior facilidade as raízes com o oxigênio que vem da parte aérea, além de permitir melhor difusão dos gases CO₂ e metano das raízes para a parte aérea (COLMER, 2003b; EVANS, 2003). Nas plantas de arroz, cv. SCSBRS 113, o agravamento da hipóxia além de induzir a formação de aerênquimas intensificou o encurtamento e formação de raízes adventícias (Figuras 1H; 18). No entanto, a formação dessas estruturas não foi suficiente para compensar as perdas de massa seca das raízes que ocorreram sob baixa oxigenação (Figura 1D), dado o encurtamento e redução do número de raízes não adventícias (Figura 18).

O aumento da oxigenação da solução nutritiva de $\pm 5,5$ para $\pm 7,5$ ppm de OD não contribuiu significativamente para o crescimento e desenvolvimento das plantas de arroz, exceto por um aumento médio de 25% do comprimento radicular (Figuras 1H; 17C). Esse aumento também foi observado em plantas mais jovens e mais sensíveis à salinidade (Figura 16 E, F). Porém, este efeito positivo não gerou consequências positivas às demais variáveis de crescimento e desenvolvimento das plantas de arroz (Figuras 1; 16), talvez por estas estarem inseridas em um sistema de cultivo hidropônico em que o comprimento radicular não teria uma maior importância na obtenção de uma melhor nutrição ou exploração de fontes de água com melhor qualidade, tendo em vista a pronta disponibilidade nutricional e nenhuma heterogeneidade do meio de cultivo.

Diversos trabalhos relatam reduções no crescimento de diversas espécies de plantas pela salinidade (MARQUES *et al.*, 2011; MIRANDA *et al.*, 2016; PILAHOME *et al.*, 2017), porém são relativamente escassos estudos voltados para a interação desse fator de estresse com a hipóxia (MALIK *et al.*, 2009; KOTULA *et al.*, 2015a). A salinidade provocou forte impacto negativo no crescimento das plantas de arroz cv. SCSBRS 113 (Figura 1), resposta observada por diversos autores em plantas de outros cultivares de arroz e sorgo (De LEON *et al.*, 2015; MIRANDA *et al.*, 2016 e PILAHOME *et al.*, 2017). No entanto, dentre as variáveis de crescimento analisadas, apenas as de área foliar e de comprimento da parte aérea responderam de forma interativa aos fatores salinidade e oxigenação (Figura 1). Nestes casos, a salinidade com NaCl a 80 mM atuou alterando o padrão de resposta aos tratamentos de oxigenação e agravando o efeito prejudicial da baixa oxigenação. A interferência no crescimento pelo estresse combinado de baixa oxigenação e salinidade também foi observada por Malik *et al.* (2009) em 17 variedades de *Hordeum marium* e uma variedade de trigo tolerante ao alagamento, as quais apresentaram danos significativos ao crescimento relativo.

Diversos trabalhos documentam que diferentes genótipos de arroz sofrem inibição na produção de biomassa com o aumento da salinidade (DE LEON *et al.*, 2015; EMONA *et al.*, 2015; PILAHOME *et al.*, 2017). A cultivar de arroz cv SCSBRS 113 também apresentou reduções significativas na massa seca das diferentes partes da planta com 10 dias de tratamento

salino a partir de 40 mM de NaCl mesmo em um estágio fenológico de maior tolerância à salinidade (Figura 1B, C, D).

5.2 Tolerância a salinidade segundo o estágio de desenvolvimento

A tolerância das plantas de arroz à salinidade, bem como de muitas outras culturas, varia com o estágio de desenvolvimento (SHINOZAKI *et al.*, 2015). O arroz é relativamente tolerante durante as etapas de germinação, perfilhamento e maturação dos grãos, sendo muito sensível logo após o estabelecimento da plântula e durante o florescimento (FRAGA *et al.*, 2010; EMBRAPA, 2013). No experimento I, a aplicação dos tratamentos salinos foi realizada no momento fenológico considerado de maior tolerância à salinidade (perfilhamento), aos 30 dias da semeadura. Ainda assim, houve prejuízos no perfilhamento, no acúmulo de massa seca, no crescimento longitudinal da parte aérea e na expansão foliar causados pelo estresse salino com NaCl a 40 ou 80 mM. Além disso, o aumento da oxigenação do meio de cultivo não foi capaz de reverter a inibição do crescimento causada pela salinidade.

Deste modo, as plantas de arroz apresentaram maiores prejuízos quando os tratamentos foram aplicados aos 12 dias da semeadura (Experimento II) do que aos 30 dias (Experimento I). Por exemplo, considerando condições de oxigenação controle ($\pm 5,5$ ppm de OD), plantas com 10 dias em presença de NaCl a 80 mM apresentaram, em relação àquelas crescendo em meio sem NaCl, reduções de 92,8% na área foliar, 57,1% no comprimento da parte aérea e 25,0% no comprimento das raízes, quando a aplicação dos tratamentos ocorreu aos 12 dias da semeadura (Figura 16B, D, F). Em contraste, nas plantas em que a aplicação ocorreu aos 30 dias as reduções foram de 53,0% na área foliar, 24,0% no comprimento da parte aérea, e não foi observada nenhuma redução no comprimento das raízes (Figura 1E, G, H). Portanto, tais resultados demonstram a maior sensibilidade das plantas logo após seu estabelecimento, conforme também observado por outros autores (SHINOZAKI *et al.*, 2015; HOANG *et al.*, 2016).

5.3 Trocas gasosas e fotossíntese: salinidade x hipóxia

As perdas de produtividade em função de estresse abióticos, como a salinidade e a hipóxia, ocorrem em função de uma série de causas, dentre elas a redução da capacidade fotossintética (HARRIS; ASHRAF, 2013), assim como observado para as plantas de arroz, cv. SCSBRS 113, submetidas à salinidade ou à baixa oxigenação (Figura 2A, B, D). De acordo com Schroeder *et al.* (2001) e Bartels e Sunkar (2005), a salinidade provoca uma diminuição do potencial osmótico da solução do solo capaz de induzir o acúmulo de ácido abscísico (ABA) pelas plantas, o qual age reduzindo a condutância estomática (g_s), a concentração interna de CO_2 (C_i) e a assimilação de CO_2 . Da mesma forma, a hipóxia também reduz a assimilação de CO_2 pela redução da g_s devido a um acúmulo de ABA nas folhas (AROCA *et al.*, 2012) e o

metabolismo C_3 do arroz impõe uma dependência da concentração de CO_2 para alcançar um máximo de assimilação (TAIZ; ZEIGER; MØLLER, 2017; PERDOMO *et al.*, 2017). Deste modo, a redução na assimilação líquida do carbono (A) pode ser devida, pelo menos em parte, à menor g_s e conseqüente redução na relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a), tanto nas plantas sob salinidade como naquelas sob baixa oxigenação.

Foi observado que, sob oxigenação controle, a salinidade com NaCl a 40 mM não reduziu significativamente a assimilação mesmo reduzindo a g_s em 38% e a relação C_i/C_a em 12%. Desse modo, as plantas de arroz conseguiram manter a assimilação líquida do carbono sem prejuízos significativos, mesmo ocorrendo o fechamento parcial dos estômatos em resposta ao estresse imposto, o que sugere que os processos bioquímicos envolvidos na assimilação não foram afetados. Em apoio a essa ideia, a eficiência instantânea de carboxilação não foi alterada pela salinidade (Figura 2E).

O fechamento estomático em resposta ao aumento de concentração de ABA nas folhas logo no começo da ação de um estresse abiótico (SCHROEDER *et al.*, 2001, MELO *et al.*, 2017) gera respostas fisiológicas decorrentes que se estabilizam com o tempo, como foi observado no sistema fotossintético das plantas sob salinidade, que apresentaram melhorias nos valores de A , E e C_i/C_a , bem como em plantas sob baixa oxigenação, com melhorias nos valores de A , g_s , E , C_i/C_a , A/C_i após 6 DAT (Figuras 3, 4). Estas alterações nas variáveis de trocas gasosas puderam ser observadas ao longo do tempo de aplicação do estresse, e representam uma convivência com as condições impostas. A exemplo dessa plasticidade, a espécie paratudo (*Tabebuia aurea*), que é uma árvore típica do Pantanal brasileiro, pode sobreviver durante pouco mais de 100 dias sob alagamento, porém, com redução das taxas de fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração; entretanto, após a retirada do estresse, a espécie possui rápida recuperação e retorna às suas taxas fisiológicas aos níveis iniciais (OLIVEIRA; GUALTIERI, 2017).

Relatos mostram que logo no começo da ação de um estresse abiótico os estômatos, normalmente, tendem ao fechamento pela redução do turgor em resposta à ação do ABA sobre os canais iônicos e com isso há um aumento na eficiência instantânea do uso da água (SCHROEDER *et al.*, 2001, MELO *et al.*, 2017). Tal aumento também foi observado aqui, tanto nas plantas de arroz que estavam apenas sob baixa oxigenação ou sob salinidade com NaCl a 80 mM, como nas que estavam sob a combinação desses dois tratamentos (Figura 2F), sendo que logo no início do estresse há uma maior eficiência instantânea do uso da água acompanhado de um maior fechamento estomático (Figuras 3B, F; 4B, F). O aumento na eficiência instantânea do uso da água pode ser explicado por uma maior restrição à transpiração do que a difusão de CO_2 para dentro dos tecidos foliares e seu conseqüente impacto na assimilação

líquida do carbono (Figura 2A, D, C). Notou-se, ainda, que os meios para se obter esse aumento diferiram entre os estresses. Apesar da eficiência instantânea do uso da água das plantas sob salinidade com NaCl a 80 mM ser similar à observada em plantas sob baixa oxigenação, o impacto fisiológico na assimilação e redução da transpiração foi maior sob baixa oxigenação (Figura 2F), ocorrendo esta, apenas porque as reduções na assimilação e na transpiração apresentaram a mesma proporcionalidade.

Plantas de pimentão responderam ao estresse salino com aumento na eficiência instantânea do uso da água (MELO *et al.*, 2017). No entanto, segundo alguns autores, com o passar do tempo maiores prejuízos ao sistema fotossintético podem contribuir para redução da assimilação de carbono e consequente redução dessa eficiência instantânea do uso da água em plantas sob estresse (CHAVES *et al.*, 2009, SIKUKU *et al.*, 2010, DAMAYANTHI *et al.*, 2010, ANJUM *et al.*, 2011). Nas plantas de arroz, durante os 10 dias de estresse, notou-se também uma pequena redução nessa grandeza pela salinidade (Figuras 3F; 4F), mas isso não foi relacionado a reduções na assimilação e sim a uma maior transpiração acompanhada de pequenos acréscimos na assimilação e condutância estomática (Figuras 3A, B, C; 4A, B, C). Ressalte-se que não se pode descartar a possibilidade de que, após os 10 dias de estresse, maiores prejuízos ocorram nos fotossistemas, reduzindo enfim a eficiência instantânea do uso da água.

A eficiência de carboxilação (A/C_i) indica a capacidade da planta de fixar o CO₂ interno, e com isso possibilita identificar a interferência de fatores não estomáticos na fotossíntese (MACHADO *et al.*, 2005). Portanto, a baixa oxigenação interferiu nos processos não estomáticos relacionados com a fixação de carbono das plantas de arroz desde que, nessa condição, houve redução na eficiência de carboxilação (Figuras 2E, 3E).

De modo geral, em espécies tolerantes ou sensíveis à salinidade observa-se aumento ou redução nos teores de clorofila, respectivamente (AKRAM; ASHRAF, 2011). Este comportamento foi observado em trigo (RAZA *et al.*, 2006, ARFAN *et al.*, 2007, LOPES *et al.*, 2012), ervilha (NOREEN *et al.*, 2010), melão (ROMERO *et al.*, 1997), girassol (ASHRAF; SULTANA, 2000, AKRAM; ASHRAF, 2011), alfafa (MONIRIFAR; BARGHI, 2009), painço (*Panicum miliaceum* L.) (SABIR *et al.*, 2009), cana-de-açúcar (GOMATHI; RAKKIYAPAN, 2011) e milho (CHA-HUM; KIRDMANEE, 2009). Para alguns autores, a salinidade reduz o teor de clorofila por prejudicar a biossíntese e acelerar a degradação do pigmento (ECKARDT, 2009). Entretanto, Juan *et al.* (2005) concluíram que os teores de clorofila *a* e *b* não são bons indicadores de tolerância à salinidade para algumas espécies, como o tomate, por exemplo, e o mesmo pode ser dito para a variedade de arroz, cv. SCCBRS 113, aqui estudada, já que as alterações nos teores de clorofilas e carotenoides não foram acompanhadas por os danos no

crescimento e redução na taxa de assimilação do carbono provocados pelo estresse salino ou até mesmo por mudança da oxigenação radicular (Figura 5). Esses resultados foram semelhantes aos observados por Benitez (2012) em arroz irrigado e por Kibria *et al.* (2017) no genótipo BINA dhan 10 de arroz tolerante à salinidade.

É importante ressaltar que apesar do primeiro passo para a degradação da clorofila *b* ser sua conversão para clorofila *a* por meio da enzima clorofilase (FANG *et al.*, 1998), o aumento no teor de clorofila *a* pela salinidade não foi provocado pela degradação de clorofila *b*, já que esta não teve seu teor diminuído (Figura 5A, B). Assim é possível afirmar que não houve participação da salinidade e nem da oxigenação em induzir processos catabólicos da clorofila *b*, bem como não houve degradação de clorofila *a* e carotenoides nas plantas de arroz em estudo. Isso pode ser resultado de uma inibição enzimática, pois, segundo Santos *et al.* (2004), o estresse salino moderado em plantas de girassol não estimulou a atividade da clorofilase, primeira enzima envolvida no catabolismo da clorofila *a*, sendo sua atividade inibida por altas concentrações salinas em plantas de girassol. Talvez mecanismo similar tenha ocorrido nas plantas de arroz.

O declínio na taxa de fotossíntese líquida em plantas de milho sob estresse salino tem sido associado a uma redução nos teores de pigmentos do aparato fotossintético, como as clorofilas *a* e *b*, e os carotenoides (EL SAYED, 2011; QU *et al.*, 2012). Esta situação foi também observada em espécies aquáticas (*Spirodela polyrhiza*) (CHANG *et al.*, 2011), cereais (*Triticum aestivum*) (ARFAN *et al.*, 2007; PERVEEN *et al.*, 2010), oleícolas (*Solanum lycopersicum*) (SINGH *et al.*, 2016) e até mesmo em plântulas de arroz, var. CO-51 (KHAN; HEMALATHA, 2016).

O papel dos pigmentos frente ao estresse salino como mecanismo de tolerância tem se mostrado divergente, podendo variar mesmo entre variedades de uma mesma espécie. Segundo Silva *et al.* (2016), a tolerância de plantas jovens de coqueiro à deficiência hídrica e/ou à salinidade do solo não pode ser atribuída à manutenção dos teores foliares de clorofilas e de carotenoides. Do mesmo modo, com base no que ocorreu com arroz, cv. SCSBRS 113, a manutenção desses pigmentos também não implicou em consequente tolerância. Além disso, mesmo não ocorrendo redução nos teores dos pigmentos fotossintetizantes e dos carotenoides, que são necessários para a fotoproteção da fotossíntese e de importantes precursores para sinalização de estresse abiótico (HARRIS; ASHRAF, 2013), a salinidade a 80 mM de NaCl e a baixa oxigenação reduziram a assimilação do carbono.

Em uma revisão, Thalmann e Santelia (2017), afirmam que a maioria dos estresses abióticos, tais como seca, alta salinidade e alta temperatura, provocam redução nos teores de amido e aumentos nos teores de hexoses, como glicose e frutose. Este fato, por exemplo, foi

comprovado em *Arabidopsis thaliana* (HUMMEL *et al.*, 2010), feijão (CUELLAR-ORTIZ *et al.*, 2008) e frutos de tomate (YIN *et al.*, 2010). Nas plantas de arroz em estudo, entretanto, o aumento da hipóxia ($OD < 3,5$ ppm) provocou grandes reduções nos teores de glicose e frutose, porém a salinidade reduziu apenas o teor de sacarose nas folhas (Figuras 8, 9). Em solos alagados, ou seja, em condições de hipóxia, é comum ocorrer uma redução da translocação de produtos fotossintetizados das folhas (fonte) para as raízes (dreno) (BARTA; SULC, 2002; YORDANOVA *et al.*, 2004). Entretanto, a manutenção da atividade fotossintética e acúmulo de açúcar solúveis nas raízes são apontadas como importantes adaptações a solos alagados e, segundo Chen *et al.* (2005), foi essa resposta metabólica que permitiu a sobrevivência de *Lepidium latifolium*, uma espécie hidrófita facultativa, a 50 dias de alagamento. Nas plantas de arroz, sob condições hidropônicas e oxigenação de $\pm 5,5$ ppm de OD, que corresponde a uma hipóxia leve, ocorreu essa resposta metabólica, pois observaram-se níveis de assimilação líquida do carbono, de sacarose nas folhas e de frutose e glicose nas raízes similares à da condição de alta oxigenação (Figuras 2A; 8; 9A, B). Entretanto, quando as plantas foram submetidas a uma hipóxia mais severa ($OD < 3,5$ ppm) não ocorreu a manutenção da atividade fotossintética e nem acúmulo de açúcares solúveis nas raízes e folhas, resultando em sérios prejuízos ao crescimento vegetal.

5.4 Disponibilidade de água e fluxo iônico: salinidade x hipóxia

De acordo com vários autores, a hipóxia é capaz de reduzir a disponibilidade de água para as plantas por reduzir a g_s (ELSE *et al.*, 2001; AROCA *et al.*, 2012) e a condutância hidráulica das raízes (L_p) (ELSE *et al.*, 2001; TOURNAIRE-ROUX *et al.*, 2003; VANDELEUR *et al.*, 2005). No presente estudo, observou-se que o conteúdo de água nas folhas, tanto aos 5 como aos 10 DAT, foi reduzido pela baixa oxigenação, porém notou-se que o conteúdo de água nas folhas foi muito mais reduzido pela salinidade do que pela baixa oxigenação (Figura 15A, B). A disponibilização de água pelo fluxo ascendente movido pela diferença de potencial hídrico entre as raízes e as folhas está diretamente relacionado à g_s (AROCA *et al.*, 2012). Porém, a redução nessa variável parece ser insuficiente para explicar as reduções no conteúdo de água das folhas de arroz pela salinidade, desde que, sob baixa oxigenação, o valor de g_s foi muito inferior àquele sob salinidade (Figura 2B). Destaque-se que, mesmo assim, as plantas de arroz apresentaram um maior conteúdo de água sob baixa oxigenação, embora a eficiência instantânea do uso da água tenha sido similar nos dois estresses (Figura 2F). Isso pode indicar um efeito adicional do componente osmótico do estresse salino, reduzindo o potencial hídrico do meio de crescimento e prejudicando a absorção de água (LOBO *et al.*, 2011; FERRAZ *et al.*, 2015).

Em plantas sob hipóxia, a redução na L_p referida anteriormente, e que pode também limitar o conteúdo de água nas folhas, tem sido bem documentada e é atribuída a acidificação citosólica das células das raízes (TOURNAIRE-ROUX *et al.*, 2003). A condição de hipóxia pode afetar essa grandeza por causa da sensibilidade das aquaporinas a esse fator de estresse (COLMER; GREENWAY, 2011). Acredita-se que possam ocorrer alterações estruturais nas aquaporinas PIP1 e PIP2, as quais possuem um resíduo de histidina (His 197) sensível ao pH (TOURNAIRE-ROUX *et al.*, 2003).

Um outro fator que poderia reduzir a L_p seria a deposição de suberina na endoderme, a qual está relacionada às barreiras de proteção contra a ROL pelas raízes (MIYAMOTO *et al.*, 2001; RANATHUNGE; STEUDLE; LAFITTE, 2003; AROCA *et al.*, 2012). Em plantas de arroz na fase de pré-perfilhamento, o tratamento de baixa oxigenação pode ter induzido a formação dessas barreiras, possivelmente, pela suberização do esclerênquima, já que o teor de lignina nas raízes foi reduzido (Figuras 15C, D; 17F) (KOTULA *et al.*, 2009). Em reforço a essa suposição também se visualizou nos tecidos de raízes dessas plantas uma intensificação de barreiras contra a ROL no esclerênquima, aos 10 DAT em ausência de salinidade (Figuras 20G, 21D). Entretanto, isto se contrapõe ao fato de a maior redução no conteúdo de água das folhas ocorrer nas plantas de arroz sob baixa oxigenação, enquanto que as plantas sob alta oxigenação apresentarem um comportamento similar quanto à formação de barreiras à ROL pela suberização do esclerênquima (Figuras 19I, 20I, 21F), porém sem apresentar reduções no conteúdo de água das folhas nem a qualquer outra variável de crescimento e desenvolvimento das plantas de arroz. Deste modo, a redução do conteúdo de água na folha, não pôde ser relacionada à formação de barreiras contra a ROL, que segundo alguns autores reduzem a L_p (MIYAMOTO *et al.*, 2001; RANATHUNGE; STEUDLE; LAFITTE, 2003), ficando, assim, o crédito maior à redução na g_s (Figuras 2B; 6A) (AROCA *et al.*, 2012).

Além dos motivos acima apresentados, que não corroboram com a ideia de que a redução do conteúdo de água das folhas devido à baixa oxigenação deva-se à formação de barreiras contra a ROL, há autores que demonstraram não haver relação entre redução da L_p com a formação das barreiras à ROL. Por exemplo, Ranathunge e Schreiber (2011) constataram que a L_p não foi alterada pela formação de barreiras contra a ROL e atribuíram isso à existência de poros nessas barreiras apoplásticas. Assim, os resultados obtidos com o cultivar de arroz estudado estão de acordo com as ideias apresentadas por esses autores.

A salinidade não estimulou a formação de barreiras contra a ROL, pois aos 10 dias de aplicação dos tratamentos, nas plantas com 30 dias após a semeadura, a salinidade não promoveu lignificação radicular (Experimento I, Figura 14) e induziu uma redução de lignina

quando o tratamento salino foi aplicado em plantas de arroz com 12 dias da semeadura (Experimento II, Figura 15D). Além disso, a histoquímica das raízes expôs uma redução na formação de barreiras contra a ROL no esclerênquima tanto aos 5 como aos 10 DAT com a atuação exclusiva da salinidade com NaCl a 80 mM sobre as raízes (Figuras 19B, E, H, K; 20B, E, H, K). Além disso, alguns autores indicam que apesar de fortes barreiras contra a ROL se formar em raízes de *Hordeum marium* em condições de hipóxia, estas foram menos robustas quando a condição foi combinada com salinidade (ALAMRI *et al.*, 2013).

Como observado no cultivar de arroz em estudo, Ranathunge *et al.* (2011) observaram que a baixa concentração de oxigênio em volta das raízes das plantas de arroz cv. Azucena, induz a formação de barreiras à ROL sem alterar a permeabilidade da água; contudo, para estes autores as barreiras contra a ROL também reduzem a permeabilidade dos íons Na^+ e Cl^- , bem como o efluxo de O_2 , o qual acontece também em outras espécies (COLMER, 2003a; SOUKUP *et al.*, 2007). No entanto, em ausência de salinidade, as alterações na oxigenação da solução nutritiva não modificaram os teores de Na^+ e Cl^- nas folhas ou raízes das plantas de arroz cv. SCSBRS 113, indicando assim não haver alterações da permeabilidade destes íons (Figura 6). Além disso, Malik *et al.* (2009) também concluíram que a estagnação de oxigênio (hipóxia) não alterou os teores de Na^+ e Cl^- nas folhas de *Hordeum marium* e de *Triticum aestivum*; contudo, segundo estes autores quando esta condição foi combinada com a de salinidade houve aumento médio de 15 e 31% nos teores de Na^+ e Cl^- , respectivamente, nas folhas de *Hordeum marium* e de *Triticum aestivum*, em relação às plantas apenas sob salinidade. Nas plantas de arroz, a baixa oxigenação associada com o NaCl a 40 mM contribuiu para que os teores de Na^+ e Cl^- aumentassem em 173% e 78%, respectivamente, em relação à oxigenação controle ($\pm 5,5$ ppm de OD) e na mesma salinidade (Figura 6B, D). Enquanto que, com a intensificação da salinidade, sob baixa oxigenação, o aporte de Na^+ para as folhas foi mantido similar à condição de oxigenação controle e o aporte de cloreto aumentou ainda mais, resultando em um valor 41% maior que o obtido nas plantas sob oxigenação controle e de salinidade com NaCl a 80 mM.

A tolerância das plantas à salinidade tem sido relacionada também com a capacidade de impedir o transporte de Na^+ para a parte aérea e a manutenção do nível de K^+ (CHEN *et al.*, 2007; CUIN *et al.*, 2008). Nas plantas de arroz, observou-se que houve uma resistência ao transporte de Na^+ para as folhas quando as plantas foram expostas à salinidade, já que o aumento no teor deste íon foi de uma magnitude muito superior nas raízes do que nas folhas (Figuras 6A, B); além disso, apesar de uma pequena redução no teor de K^+ nas raízes, nas folhas ele foi mantido (Figuras 7A, B). Essa redução no teor de K^+ foi provavelmente devido à grande competição com o Na^+ pelos canais de absorção de potássio em condições de alta

salinidade, o qual também compete com outros íons nutrientes, porém, especialmente com o K^+ (Kibria *et al.*, 2017).

Apesar de que algumas variedades de arroz tolerantes à salinidade acumulem menos Na^+ nas folhas do que algumas variedades sensíveis quando sob estresse salino (MORADI; ISMAIL, 2007; GHOSH *et al.*, 2011), para os autores Khan *et al.* (2015) e Kotula *et al.* (2015) a tolerância das plantas à salinidade não está relacionada apenas ao fato de manterem baixos teores de Na^+ nas folhas, mas também depende muito da tolerância do tecido foliar em si. Por exemplo, em plantas de grão-de-bico, tanto os genótipos sensíveis quanto os tolerantes apresentaram similares teores de Na^+ nas folhas, mas respostas fisiológicas bem distintas (KHAN *et al.*, 2015). As plantas de arroz apresentaram um baixo limiar de Na^+ nas folhas sob salinidade com NaCl a 40 mM, $132 \mu\text{mol g}^{-1}$ MS, capaz de causar prejuízos no crescimento das plantas, como na expansão foliar (Figura 6B, 1E), de modo que a tolerância à salinidade aparenta estar mais relacionada ao tecido foliar em si, como defendido por Khan *et al.* (2015) e Kotula *et al.* (2015), bem como a outros impactos negativos da salinidade sobre a planta. A exemplo disso, em condições salinas (NaCl a 80 mM), a alta oxigenação provocou um maior acúmulo de Na^+ nas folhas em comparação ao tratamento de oxigenação com $\pm 5,5$ ppm de OD, entretanto não houve nenhuma diferença nas reduções das variáveis de crescimento, desenvolvimento e de assimilação de carbono desses tratamentos (Figuras 1; 2; 3; 6B). Portanto, ou o tecido foliar de arroz cv. SCSBRS 113 é muito sensível à salinidade ou a causa dos danos provocados pela salinidade no crescimento possa estar mais relacionada ao grande acúmulo de Na^+ e Cl^- nas raízes e seus impactos indiretos na redução da g_s e diretos no aumento de peroxidação lipídica nas raízes por toxidez iônica, além de uma redução no conteúdo de água nas folhas pela redução do potencial hídrico do meio de cultivo (Figuras 10C, 15B).

Embora as alterações na oxigenação da solução nutritiva tenham causado, de modo geral, reduções nos teores de K^+ e Ca^{2+} nas raízes (Figura 7A, C), principalmente em condições de hipóxia mais severa, as plantas de arroz não apresentaram sintomas de deficiência de K^+ (resultados não apresentados), caracterizados pela ausência de lesões necróticas nos ápices e margens foliares das folhas mais velhas, ou de deficiência de Ca^{2+} (resultados não apresentados), caracterizados pela ausência de deformação de folhas jovens e raízes acastanhadas, curtas e muito ramificadas (ERNANI *et al.*, 2007; TAIZ; ZEIGER; MØLLER, 2017). Em reforço a isso, os teores desses íons nas folhas foram similares em todos os tratamentos de oxigenação, sob condições controle de salinidade (Figura 7B, D). Por outro lado, como observado também por diversos autores (HU *et al.*, 2007; KAYA *et al.*, 2010; AKRAM *et al.*, 2010), a salinidade também reduziu fortemente os teores de K^+ e Ca^{2+} nas raízes.

Entretanto, as reduções nos teores de Ca^{2+} , nas raízes, com a alteração da oxigenação parece não acarretar nenhum prejuízo no crescimento das plantas, já que estas quando sob alta oxigenação apresentaram crescimento similar àquele da condição controle. Contudo, a redução do teor de K^+ nas raízes das plantas de arroz sob hipóxia mais severa, assim como ocorre sob salinidade, é prejudicial às plantas, já que se acredita que a manutenção do K^+ durante o estresse de hipóxia ou anóxia possa ser uma das chaves para conferir tolerância das plantas ao alagamento ou até a submersão, inclusive em plantas de arroz (MUGNAI *et al.*, 2011; GAUTAMA *et al.*, 2016).

Da mesma forma que o observado em quatro variedades de mangueira, e em outras espécies, a salinidade reduziu os teores de Ca^{2+} nas folhas e raízes (KAYA *et al.*, 2010; AKRAM *et al.*, 2010; LUCENA *et al.*, 2012). Essa redução nos teores de cálcio também foi observada em plântulas de arroz, cv. BRRI dhan47, que mesmo sob uma maior disponibilidade exógena de Ca^{2+} na solução nutritiva não foi possível compensar totalmente a redução de Ca^{2+} nas folhas, apesar do aumento das defesas antioxidantes (RAHMAN *et al.*, 2016).

De acordo com Martinez-Ballesta *et al.* (2008) e Martinez-Ballesta e Carvajal (2014), em plantas de pimenta, a redução nos teores de cálcio pela salinidade está associada ao fechamento dos canais de água (aquaporinas). Além disso, esses autores também relacionaram a tolerância das plantas à salinidade a uma superexpressão de isoformas de aquaporinas capazes de melhorar a entrada de água e cálcio nas plantas (MARTINEZ-BALLESTA *et al.*, 2008; MARTINEZ-BALLESTA; CARVAJAL, 2014). É interessante notar, que a perda nos teores de Ca^{2+} foi bem maior que os acréscimos provocados por alguns tratamentos nos teores de Na^+ nas raízes e folhas, indicando que tais reduções não ocorreram por uma simples compensação iônica de dois íons Na^+ por um íon de Ca^{2+} , mas realmente por prejuízos na absorção do íon Ca^{2+} , como também observado por Martinez-Ballesta e Carvajal (2014) (Figuras 6; 7).

Embora a salinidade com NaCl a 80 mM, associada com a baixa oxigenação da solução de cultivo, tenha provocado reduções nos teores K^+ e Ca^{2+} nas raízes, esta combinação não provocou reduções nesses teores nas folhas; ao invés disso, ocorreu um expressivo aumento no teor de K^+ nas folhas (Figura 7B). Assim a redução nos teores de K^+ nas raízes de arroz, nestas condições, não foi resultado apenas de uma menor absorção desse íon pelas raízes, mas também foi resultado de seu transporte para as folhas. Além disso, diferentemente do observado por Malik *et al.* (2009), os teores de Ca^{2+} nas folhas foi reduzido pela salinidade, porém, não houve interação desse fator com a hipóxia (Figura 7D).

5.5 Ação antioxidante: salinidade x hipóxia

O teor de proteína solúvel pode aumentar em resposta ao alagamento ou ao estresse salino como foi observado em plantas de tabaco e feijão, respectivamente (ANURADHA *et al.*,

2008; FARHANGI-ABRIZA *et al.*, 2017). Além disso, estes estresses demandam mais energia para síntese de proteínas, que aumenta em plântulas de arroz (EDWARDS; ROBERTS; ATWELL, 2012) Entretanto, de modo geral, as plantas de arroz não responderam com aumentos nos teores de proteína em função das alterações na oxigenação ou da salinidade da solução nutritiva (Figura 10A, B). É interessante chamar a atenção de uma condição experimental em particular, o tratamento com NaCl a 40 mM associado com a baixa oxigenação, que apresentou um aumento no teor protéico nas folhas, possivelmente como resultado de uma maior translocação de compostos aminados das raízes (fonte) para as folhas (dreno), já que concomitantemente ocorreu uma expressiva redução do teor protéico nas raízes (Figura 10A, B).

Os níveis de MDA refletem o estado de peroxidação das membranas celulares e o comprometimento dos sistemas de defesa antioxidante em remover o excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS) (LLESUY, 2002; CHIRICO, 1994). Alguns autores apontam, ainda, o aumento na peroxidação de lipídeos em plantas sob estresse salino como importante fator para redução no crescimento e desenvolvimento das plantas (BONIFACIO *et al.*, 2016). Nas plantas de arroz sob oxigenação controle, a salinidade provocou aumentos nos teores de MDA (Figura 10C, D) e, conseqüentemente, na peroxidação de lipídeos, que se relacionaram bem aos danos no crescimento e desenvolvimento provocados pela salinidade, tanto nas folhas quanto nas raízes.

Assim como observado por outros autores em diferentes espécies (BAIER *et al.*, 2005; CHRISTOU; MANGANARIS; FOTOPOULOS, 2014), o aumento expressivo de Na⁺ nas raízes das plantas de arroz sob salinidade e condições controle de oxigenação (Figura 6A) foi acompanhado de aumento na peroxidação lipídica (MDA) (Figura 10C). Assim, a entrada excessiva de Na⁺ pode ser reflexo de uma ação tóxica deste íon, que resulta em aumento de ROS, as quais são capazes de provocar danos oxidativos às membranas celulares das raízes, tornando-as ainda mais permeáveis ao Na⁺ (BAIER *et al.*, 2005; NATH *et al.*, 2016).

Diferentemente do encontrado na maioria dos trabalhos, há casos em que aumentos na peroxidação lipídica devidos à salinidade não se relacionam diretamente com reduções no crescimento ou com outras respostas fisiológicas e bioquímicas, como observado em duas cultivares de milho (AZEVEDO NETO *et al.*, 2006). Nesse sentido, é importante ressaltar que plantas de arroz sob alta oxigenação e em ausência de salinidade, embora tenham apresentado alto nível de peroxidação lipídica, isso não foi acompanhado de danos no crescimento das plantas de arroz ou em outras variáveis como a assimilação líquida de C ou relacionadas com esse processo (Figuras 1-5). Entretanto, em plantas sob baixa oxigenação e na ausência de salinidade, a peroxidação lipídica foi similar à do tratamento controle, mas, nesse caso, não

ocorreram tais danos. Portanto, tais resultados recomendam cautela ao se tentar relacionar alterações na peroxidação lipídica (teor de MDA) com danos no crescimento provocados por estresses abióticos.

Analisando os dados de MDA, os resultados sugerem que as plantas de arroz sob condições de mais baixa oxigenação ($OD < 3,5$ ppm) não estavam sob estresse oxidativo, uma vez que, nessa condição, os teores de MDA foram iguais nas raízes e folhas em relação aos respectivos controles ($\pm 5,5$ ppm de OD) (Figura 10C, D). Esses resultados diferiram dos apresentados por LI *et al.* (2006) e LI *et al.* (2010), em plantas de duas espécies de maçã sob condições de hipóxia, em que houve aumento da formação de duas ROS (o radical superóxido e o peróxido de hidrogênio) e concomitantemente aumento na peroxidação dos lipídeos de membrana das raízes, caracterizado pelo forte aumento em MDA. Por outro lado, resultados antagônicos foram observados por Bin *et al.* (2010) com relação a duas variedades de milho sob condições de alagamento. Enquanto que na variedade HZ32 essa condição não causou aumento nos teores de MDA nas raízes ou folhas, na variedade K12 foi observado aumento. Portanto, os resultados com a cultivar de arroz estudada sugerem que esta apresenta uma boa proteção contra danos oxidativos induzidos pela hipóxia uma vez que não há aumentos de MDA nem de atividade antioxidante enzimática (Figuras 10C, D; 11).

Um dos efeitos da salinidade e de outros estresses nas plantas é a produção de ROS em excesso, gerando o chamado estresse oxidativo (AZEVEDO NETO *et al.*, 2005; PETERHANSEL *et al.*, 2010; KAUR *et al.*, 2016). Para se protegerem dessas espécies, as plantas desenvolveram um sofisticado sistema de defesa antioxidante, que é constituído de compostos enzimáticos e não enzimáticos (MITTLER, 2002). Com relação ao sistema enzimático, foi observado que a dismutase do superóxido (SOD), que se constitui na primeira linha de defesa enzimática antioxidante, dismutando o radical superóxido em O_2 e H_2O_2 (FOYER; NOCTOR, 2003) teve sua atividade, nas raízes, aumentada nas plantas submetidas à salinidade, especialmente naquelas do tratamento de baixa oxigenação ($OD < 3,5$ ppm) (Figura 11A). Esse aumento em atividade da SOD nas raízes, sob salinidade, também foi encontrado por outros autores (DAS *et al.*, 2014; ROY; CHAKRABORTY, 2015; MISHRA *et al.*, 2016; LIAO *et al.*, 2016) e destaca a importância da ação dessa enzima contra o estresse oxidativo em arroz.

Diferentemente do que ocorreu nas raízes, a SOD, nas folhas, não aumentou sua atividade em função da salinidade e sob condições de baixa ou alta oxigenação da solução nutritiva a atividade foi reduzida, porém isso ocorreu sem que houvesse interação entre esses fatores (Figura 11B). Estes resultados na atividade dessa enzima sob salinidade podem sugerir uma baixa participação da SOD na homeostase redox nesses órgãos das plantas de arroz. No

entanto, na maioria dos casos, essa enzima atua principalmente eliminando o radical superóxido produzido em excesso na cadeia transportadora de elétrons dos cloroplastos, sob condições de estresse salino, tanto em plantas cultivadas quanto em halófitas C3 (QIU-FANG *et al.*, 2005; AZEVEDO NETO *et al.*, 2006; MORADI; ISMAIL, 2007). Ressalte-se que a maior tolerância de algumas espécies à salinidade tem sido associada com a manutenção de baixas concentrações desse radical livre nos tecidos, como foi observado em quatro cultivares de arroz (KAUR *et al.*, 2016). De acordo com os resultados apresentados, a baixa oxigenação não induziu nenhum aumento de atividade na SOD, nas folhas, bem como não contribuiu com aumentos nos teores de MDA (Figuras 10D, 11B). Deste modo, a manutenção da atividade da SOD nas folhas sob baixa oxigenação ou sob salinidade sugere não haver necessidade de aumento de atividade para eliminar radicais superóxidos. Outra possibilidade é que as plantas de arroz sejam incapazes de aumentar a atividade dessa enzima, além dos níveis de atividade apresentados, como ocorre em plantas sensíveis à salinidade (KAUR *et al.*, 2016).

A catalase (CAT), que é uma das enzimas de maior eficiência catalítica (SLESÁK *et al.*, 2007), é considerada por alguns autores como a principal eliminadora de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em plantas sob condições de estresse (AZEVEDO NETO *et al.*, 2005; KAUR *et al.*, 2016). Esta enzima teve sua atividade nas folhas das plantas de arroz aumentada pelo estresse salino com NaCl a 80 mM, sob condições controle de oxigenação (Figura 11D), e isso ocorreu, provavelmente, para eliminar o H_2O_2 formado pela fotorrespiração, que é aumentada em condições de salinidade (FOYER *et al.*, 2009; PETERHANSEL *et al.*, 2010). Como o arroz é uma planta de metabolismo C3, a CAT tem sido apontada como uma enzima crucial para eliminar o H_2O_2 peroxissomal oriundo do processo de fotorrespiração (QUEVAL *et al.*, 2007). Portanto, o aumento em atividade da CAT nos tecidos aéreos das plantas estressadas pela salinidade destaca seu papel na proteção antioxidante (MITTLER *et al.*, 2002; KAUR *et al.*, 2016). Além disso, a manutenção de alta atividade da CAT e da peroxidase do ascorbato (APX) tem sido observada em genótipos de arroz tolerantes à salinidade (Kibria *et al.*, 2017). Entretanto, a alteração da oxigenação da solução de cultivo para uma condição de baixa ou alta oxigenação interferiu na atividade da CAT em qualquer condição de salinidade, prejudicando a ação desta enzima no combate ao estresse oxidativo provocado pela salinidade, nas folhas (Figura 11D).

As peroxidases (POX ou POD), são enzimas que utilizam fenóis como co-substratos para eliminar o H_2O_2 e atuam na proteção contra o estresse oxidativo em plantas (DEMIREL; TURKAN, 2005; KIBBIAN *et al.*, 2017). Especificamente, neste trabalho, estudou-se uma POX, que foi dosada utilizando o fenol guaiacol, daí o nome peroxidase do guaiacol (G-POD), algumas vezes referidas na literatura como GPOX. Esta enzima, dentre as

eliminadoras de H₂O₂ estudadas, foi a que se apresentou com maior atividade específica (cerca de 70 vezes aquela da APX) nas raízes (Figura 11C-F). Mesmo com o aumento da salinidade, sua atividade se manteve estável, ou seja, igual àquela da condição controle, isto é, em ausência de salinidade e OD \pm 5,5 ppm. Este resultado ressalta um comportamento diferente do observado em outros genótipos de arroz tolerantes ou não à salinidade, nos quais a atividade dessa enzima foi reduzida com o aumento da salinidade (KIBBIAN *et al.*, 2017). O papel da G-POD na proteção oxidativa é mais destacado quando se observa que sua atividade foi significativamente aumentada no tratamento de baixa oxigenação (OD < 3,5 ppm) mesmo em condições de salinidade. Portanto, os resultados sugerem que a G-POD está relacionada com a proteção oxidativa contra as ROS nas raízes em qualquer condição ambiental do estudo, já que manifesta alta atividade mesmo em condições controle, mas atua mais ativamente em salinidade com NaCl a 40 e a 80 mM sob baixa oxigenação da solução nutritiva. A importância da G-POD no combate às ROS sob salinidade é destacada por Ali *et al.* (2014), que relacionaram a tolerância de plântulas de arroz à salinidade a uma maior atividade dessa enzima, dentre outras variáveis analisadas, apesar do mesmo não ocorrer para todos os genótipos tolerantes (KIBBIAN *et al.*, 2017).

A APX, enzima que elimina o H₂O₂ utilizando como co-substrato o ascorbato, tem sido apontada como uma das mais importantes na defesa antioxidante (MITTLER *et al.*, 2002; KAUR *et al.*, 2016; KIBBIAN *et al.*, 2017). Para alguns autores, o alto nível de H₂O₂ intercelular é responsável pela indução de atividade da APX citosólica em plantas de arroz sob estresse salino (LEE *et al.*, 2001, SHAN; LIU, 2017). A atividade dessa enzima, da mesma forma que o teor de MDA, aumentou em função da salinidade da solução nutritiva, tanto nas folhas quanto nas raízes (Figura 11E, F). Aumentos na atividade da APX pela salinidade também foram observados por Kaur *et al.* (2016), que relacionaram a alta atividade específica da APX a variedades de arroz tolerantes à salinidade, sendo observada baixa atividade da CAT nas mesmas. Por outro lado, Kibbian *et al.* (2017) relacionaram reduções na atividade da APX e da CAT a variedades sensíveis a salinidade.

A APX usa ascorbato como um redutor para eliminar o H₂O₂ e convertê-lo em desidroascorbato (KAUR *et al.*, 2016). A atividade da APX, sob baixa oxigenação, foi similar nas raízes ou bastante inferior nas folhas, em comparação à condição controle, enquanto o teor de ascorbato total foi reduzido nas raízes e mantido nas folhas (Figuras 12C, D). Desse modo, a baixa oxigenação não parece estar relacionada com um aumento da necessidade do uso do ciclo ascorbato-glutationa. Por outro lado, os aumentos pontuais observados nas atividades específicas das enzimas SOD, G-POD e APX nas raízes, sob salinidade com NaCl a 40 mM e

baixa oxigenação ($OD < 3,5$ ppm), parecem ser apenas um reflexo da redução do teor de proteínas neste tratamento (Figuras 10A; 11A, C, D).

Analisando de forma conjunta os dados de atividade enzimática e os de peroxidação lipídica, os resultados sugerem que as ROS não tiveram participação importante nos danos provocados pela baixa oxigenação nas raízes e folhas de plantas de arroz, em que o teor de MDA e a atividade das enzimas SOD, CAT APX se mantiveram similares ou inferiores aos correspondentes controles. Na literatura, os trabalhos que investigam a ação das enzimas antioxidantes sob diferentes condições de oxigenação radicular são escassos, embora existam aqueles que comparam condições de solo aerado e solo alagado (hipóxia) (BIN *et al.*, 2010). Nestas últimas condições, esses autores observaram que as atividades das enzimas SOD, CAT, APX e POX aumentaram nas folhas de duas variedades de milho, enquanto que, nas raízes, a SOD mostrou menor atividade, a APX e a POX tiveram aumentos em atividade e a CAT não teve alteração em atividade. Portanto, nas plantas de arroz, cv. SCSBRS 113, o sistema antioxidante enzimático sob hipóxia severa ($OD < 3,5$ ppm) teve papel similar à de um sistema antioxidante atuando sob as condições de hipóxia leve ($\pm 5,5$ ppm de OD) ou sob aeração ($\pm 7,5$ ppm de OD), e desse modo não respondeu ao estresse de hipóxia com incrementos nas defesas antioxidantes enzimáticas como ocorre em outras espécies.

A salinidade, por outro lado, foi melhor relacionada com a indução de aumento de atividade da SOD e da APX nas raízes, e da CAT e, principalmente, da APX nas folhas das plantas de arroz. Enquanto que o aumento na atividade da G-POD e manutenção das atividades da SOD e APX nas raízes, sob baixa oxigenação e salinidade com NaCl a 80 mM, caracterizam uma resposta conjunta aos estresses já que a baixa oxigenação não interfere sozinha na atividade destas enzimas, mas aumentou a necessidade de uma maior atividade da G-POD quanto combinada com o estresse salino.

Para análise do sistema de defesa antioxidante não enzimática foram determinados os teores de ascorbato reduzido (AsA) e total e os teores de glutathiona reduzida (GSH) e total, bem como os estados redox do ascorbato e da glutathiona. O AsA, de acordo com Noctor e Foyer (1998), pode reagir diretamente com os radicais livres (hidroxil e superóxido), bem como pode regenerar o α -tocoferol a partir do radical tocoferoxil, o qual atua no combate à oxidação lipídica das membranas. O AsA pode ainda ser fonte de poder redutor para a enzima APX, conferindo assim proteção oxidativa às plantas sob condições de estresse (GILL; TUTEJA, 2010). A GSH, por sua vez, funciona como um antioxidante que, além de reduzir o ascorbato, pode atuar diretamente como removedora de ROS, tais como o radical hidroxil, o oxigênio singlete e o peróxido de hidrogênio (GILL; TUTEJA, 2010).

Nas raízes, o aumento no teor de AsA pela salinidade (NaCl a 80 mM) não dependeu do nível de oxigenação da solução de cultivo, diferentemente dos teores de ascorbato total que dependeram; além disso, qualquer alteração na oxigenação controle resultou em queda nesses teores, de tal forma que houve um aumento no estado redox do ascorbato pela salinidade a 80 mM de NaCl (Figuras 12A, C, E). Ressalte-se que isso ocorreu, apesar da alta atividade da APX nestas condições. O acúmulo de AsA também tem sido observado por outros autores em plantas sob seca (YANG *et al.*, 2008), o que pode indicar que o estresse osmótico pode desencadear o acúmulo desse agente redutor na proteção oxidativa. Entretanto, outros tipos de estresse, como o provocado pelo Cd (ROMERO-PUERTAS *et al.*, 2007), podem reduzir a concentração de AsA, como ocorreu nas plantas de arroz sob hipóxia mais severa (Figura 12A) e mesmo sob estresse salino a 200 mM de NaCl, em cajueiro (FERREIRA-SILVA, 2008), o que também pode indicar sua importância direta na proteção contra o radical superóxido (NOCTOR; FOYER, 1998, GILL; TUTEJA, 2010), o qual também é fortemente combatido pela SOD nestas mesmas condições (Figura 11A). Por outro, nas raízes das plantas de arroz sob condições de baixa oxigenação, embora o conteúdo de AsA tenha apresentado diminuição, em relação ao controle, o estado redox do ascorbato aumentou porque o conteúdo de ascorbato total sofreu uma maior redução em seu conteúdo.

Nas folhas, os teores de AsA e ascorbato total foram aumentados pelo tratamento de alta oxigenação ($\pm 7,5$ ppm de OD), porém não foram alterados no maior nível de salinidade (Figura 12B, D). É importante destacar que o efeito positivo no acúmulo de AsA no tratamento de mais alta oxigenação foi progressivamente revertido pela salinidade, o que sugere a necessidade por mais redutor em condições de salinidade, como apontado por alguns autores (MILLER *et al.*, 2010). As alterações nos teores de AsA e ascorbato total foram tais que o estado redox do ascorbato, nas folhas, foi levemente aumentado por alterações na oxigenação controle da solução de cultivo das plantas de arroz, porém foi reduzido pela salinidade (NaCl a 80 mM), isto tendo ocorrido sem interação significativa entre os fatores de estresse analisados (Figura 12B, C, D).

Nas raízes, o teor de glutathiona total aumentou pela baixa oxigenação e pela salinidade (Figura 13C), apesar de haver relato de que os estresses salino e térmico reduzem a glutathiona total em plantas de pinhão-manso (SILVA *et al.*, 2010). Já o acúmulo de GSH nas raízes ocorreu de modo antagônico frente aos estresses abióticos estudados, aumentando pela baixa oxigenação, na ausência de salinidade, mas sendo reduzido sob baixa oxigenação na presença de salinidade, assim como o estado redox da glutathiona (Figura 13A, C, E, F).

Nas folhas, o estado redox da glutathiona foi maior na mais alta oxigenação devido a uma redução na glutathiona total, enquanto que sob salinidade ou baixa oxigenação o estado

redox foi reduzido em virtude do aumento no teor de glutathiona total, tendo em vista que o teor de GSH não foi alterado por nenhum dos tratamentos (Figura 13B, D, F). Em outras plantas, como o tomateiro, os teores de GSH nas folhas foram reduzidas pela salinidade (MITTOVA *et al.*, 2003; FERREIRA-SILVA, 2008). De modo que, no caso presente, o aumento em glutathiona total se deu por um aumento na GSSG, uma vez que os teores de GSH entre plantas estressadas e controle foram similares, o que pode indicar que esse aumento não se deve a uma resposta específica das plantas de arroz ao estresse salino ou à hipóxia.

Deve-se ressaltar que o aumento em atividade da APX nas raízes e folhas das plantas de arroz sob salinidade (Figura 12E, F). foi acompanhado de uma redução no estado redox da glutathiona, tanto nas raízes como nas folhas, e de uma leve redução no estado redox do ascorbato, nas folhas (Figura 13E, F). As reduções no estado redox da glutathiona e do ascorbato podem ser resultado da alta demanda por compostos reduzidos e pouca disponibilidade de NAD(P)H para a atividade da redutase do monodesidroascorbato (MDHAR) e para regeneração da GSH pela atividade da redutase da glutathiona (GR) (AZEVEDO NETO *et al.*, 2005). Segundo Hoque *et al.*, 2007, os teores de AsA e GSH foram reduzidos em consequência da ativação do ciclo enzimático do ascorbato-glutathiona para dispor de poder redutor para a APX. Entretanto, alguns autores, ainda assim, observaram aumentos na concentração de AsA e GSH em plantas de milho sob salinidade (GONDIM *et al.*, 2013).

5.6 Considerações finais

De modo geral, ficou demonstrado que, na fase de perfilhamento, a baixa oxigenação da solução de cultivo prejudicou muito mais o crescimento e desenvolvimento das plantas de arroz que a salinidade, e a ação combinada desses estresses trouxe prejuízos ainda maiores; entretanto, na fase de pré-perfilhamento, a salinidade atuou como um estresse muito mais severo. Além disso, a atenuação da hipóxia pela suplementação do meio com oxigênio molecular pouco contribuiu para um melhor crescimento das plantas de arroz ou para outras respostas fisiológicas e bioquímicas que conferissem maior tolerância à salinidade (Figuras 1-14).

As plantas de arroz, cv. SCSBRS 113, foram bem-sucedidas em manter os pigmentos fotossintetizantes apesar dos fortes estresses de baixa oxigenação e de salinidade com NaCl a 80 mM. E, as barreiras à ROL, que podem ser induzidas pela hipóxia, não prejudicaram a

entrada de água ou dos íons Ca^{2+} e K^+ nas plantas de arroz, assim como não barraram qualquer entrada excessiva dos íons tóxicos, Na^+ e Cl^- , comuns em ambientes salinos (Figuras 18-21).

A baixa oxigenação contribuiu para uma redução do conteúdo de água foliar, dos teores dos cátions Ca^{2+} e K^+ , para um considerável encurtamento radicular não relacionado à formação de barreiras contra a ROL, além de reduzir a sacarose e os monossacarídeos disponíveis para sustentar energeticamente e estruturalmente o crescimento e desenvolvimento das plantas de arroz, enquanto que a salinidade afetou negativamente apenas o teor de sacarose foliar.

O agravamento da hipóxia não resultou em estresse oxidativo, mas a salinidade provocou estresse oxidativo, aumentando o teor de MDA e provocando a indução de aumentos de atividade da SOD e da APX e manutenção de uma alta atividade da G-POD nas raízes, e da CAT e, principalmente, da APX nas folhas das plantas de arroz.

Deste modo, a tolerância à salinidade das plantas de arroz mostrou-se relacionada à conservação da condutância estomática, à redução do alto fluxo de Na^+ e Cl^- para dentro das raízes e à melhor eficiência das enzimas antioxidantes, principalmente nas folhas, enquanto a tolerância a uma maior hipóxia relacionou-se à conservação da condutância estomática, com seu impacto positivo sobre os recursos energéticos e estruturais, além da formação de aerênquimas e barreiras contra a ROL, que são adaptações das plantas de arroz a este tipo de ambiente, e manutenção de K^+ nas raízes.

6 CONCLUSÃO

A hipóxia agravou os prejuízos provocados pela salinidade e a suplementação de oxigênio dissolvido contribuiu muito pouco para o melhor crescimento e desenvolvimento de plantas de arroz sob salinidade. Além disso, a formação de barreira contra a perda radial de oxigênio (ROL) não contribuiu para maior tolerância à salinidade, uma vez que não impediu a entrada de íons excessiva de Na^+ e Cl^- .

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R.; ORTUÑO, M. F.; BERNAL-VICENTE, A.; DIAZ-VIVANCOS, P.; SANCHEZ-BLANCO, M. J.; HERNANDEZ, J. A. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. **Agronomy** 7, 18, 2017 doi:10.3390/agronomy7010018
- AGUDO, E.G. Demanda Bioquímica de Oxigênio. **Apostila da disciplina Fundamentos Químicos do Saneamento**. Universidade Mackenzie, 1992.
- AKRAM, M.; ASHRAF, M.Y.; AHMAD, R.; RAFIQ, M.; AHMAD, I.; IQBAL, J. Allometry and yield components of maize (*Zea mays* L.) hybrids to various potassium levels under saline conditions. **Arch Biol Sci Belgrade** 62:1053–1061, 2010 doi: 10.2298/abs1004053a
- AKRAM, M.S., ASHRAF, M. Exogenous application of potassium dihydrogen phosphate can alleviate the adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.). **J. Plant Nutr.** 34: 1041-1057, 2011 doi: 10.1080/01904167.2011.555585
- ALAMRI, S. A.; BARRETT-LENNARD, E. G.; TEAKLE, N. L.; COLMER T. D. Improvement of salt and waterlogging tolerance in wheat: comparative physiology of *Hordeum marinum*-*Triticum aestivum* amphiploids with their *H. marinum* and wheat parents. **Functional Plant Biology** 40(11):1168-1178, 2013 doi:10.1071/FP12385
- ALI, M.N.; GHOSH, B.; GANTAIT, S.; CHAKRABORTY, S. Selection of rice genotypes for salinity tolerance through morpho-biochemical assessment. **Rice Sci** 21: 288-298, 2014 doi: 10.1016/S1672-6308(13)60189-4
- AMARAL, L. I. V.; GASPAR, M.; COSTA, P. M. F.; AIDAR, M. P. M.; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v. 34, n. 4, p. 425-431, 2007.
- ANJUM, S.A., XIE, X, WANG, L. *et al.*, Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **Afr. J. Agr. Res.** 6: 2026-2032, 2011.
- ANURADHA, M.; SIVARAJU, K.; KRISHNAMURTHY, V. Effect of waterlogging on physiological characteristics, yield and quality of flue-cured tobacco. **Ind J Plant Physiol.** 18: 67, 2013 doi:10.1007/s40502-013-0008-0

- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- ARFAN, M.; ATHAR, H. R.; ASHRAF, M. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? **J. Plant Physiol.** 6:685-694, 2007 doi:10.1016/j.jplph.2006.05.010
- ARMSTRONG, W. Aeration in higher plants. **Advances in Botanical Research** 7:236–332, 1979.
- AROCA, R.; PORCEL, R.; RUIZ-LOZANO J.M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. **Journal of Experimental Botany** 63, 43–57, 2012 doi: 10.1093/jxb/err266
- ARUNYANARK, A., JOGLOY, S., AKKASAENG, C. Chlorophyll stability is an indicator of drought tolerance in peanut. **J. Agron. Crop Sci.** 194: 113-125, 2008.
- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 50, p. 601-639, 1999.
- ASHRAF, M.; SULTANA, R. Combination effect of NaCl salinity and N-form on mineral composition of sunflower plants. **Biol. Plant.** 43: 615-619, 2000.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, MR. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Env. Exp. Bot.**, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007.
- AZEVEDO NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; ABREU, C. E. B.; GOMES-FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany** 56: 87–94, 2006 doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.01.008
- AZEVEDO NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; MEDEIROS, J.V.; GOMES-FILHO, E. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 1114-1122, 2005 doi:10.1016/j.jplph.2005.01.00
- BAIER, M., KANDBINDER, A., GOLLDACK, D., DIETZ, K. J. Oxidative stress and ozone: perception, signalling and response. **Plant Cell Environ.** 28, 1012–1020, 2005 doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01326.x

- BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2ª ed. Trad. M.A.L. Recio e L.C.M Carrera. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- BARTA, A.L.; SULC, R.M. Interaction between waterlogging injury and irradiance level in alfalfa. **Crop Science** 42, 1529-1534, 2002 doi:10.2135/cropsci2002.1529
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and Salt Tolerance in Plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 24:1, 23-58, 2005 doi: 10.1080/07352680590910410
- BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling. **J. Exp. Bot.** 65, 1229–1240, 2014 doi: 10.1093/jxb/ert375
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assay applicable to acrylamide gels. **Anal Biochem**, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BEERS, R.F.; SIZER JR.; I.W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase, **J. Biol. Chem.** v. 192 p. 133–140, 1952.
- BENITEZ, L. C. Fisiologia do estresse salino em arroz: Caracterização da resposta bioquímica e molecular. 2012. 115f. **Tese** (doutorado em fisiologia vegetal). Universidade Federal de Pelotas, 2012.
- BIN, T.; SHANG-ZHONG, X.; XI-LING, Z.; YONG-LIAN, Z. AND FA-ZHAN, Q. Changes of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of waterlogging-tolerant and waterlogging-sensitive maize genotypes at seedling stage. **Agricultural Sciences in China**. 9(5): 651-661, 2010 doi: 10.1016/S1671-2927(09)60140-1
- BLOOM, A.; EPSTEIN, E. Varietal differences in salt induced respiration in barley. **Plant Sci. Lett.** v. 35 p.1-3, 1984.
- BOND, J.; DONALDSON, L.; HILL, S.; HITCHCOCK, K. Safranin fluorescent staining of wood cell walls. **Biotechnic & Histochemistry**, 83(3-4): 161-171, 2008 doi:10.1080/10520290802373354
- BONIFACIO, A.; CARVALHO, F. E. L.; MARTINS, M. O.; LIMA NETO M. C.; CUNHA, J. R.; RIBEIRO, C. W.; MARGIS-PINHEIRO, M.; SILVEIRA, J. A. G. Silenced rice in both cytosolic ascorbate peroxidases displays pre-acclimation to cope with oxidative stress induced by 3-aminotriazole-inhibited catalase. **Journal of Plant Physiology** 201, 17–27, 2016 doi:10.1016/j.jplph.2016.06.015

- BOWLER, C.; FLUHR, R. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 241-246, 2000.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantifications of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p.248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SDA/ACS, p.399, 2009.
- CANTRELL, R. **Arroz**: por quê é tão essencial para a segurança e estabilidade global. Perspectivas Econômicas, publicação eletrônica do Departamento de Estado dos Estados Unidos, v.7, n.2, p.22-25, 2002.
- CARPITA, N. C.; RALPH, J.; McCANN, M. C. Responses to abiotic stresses. *In*: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Eds.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, Wiley blackwell: American Society of Plant Physiologists, 2º Ed p. 45-110, 2015.
- CHANG, I.H.; CHENG, K.T.; HUANG, P.C.; LIN, Y.Y.; CHENG, L.J.; CHENG, T.S. Oxidative stress in greater duckweed (*Spirodela polyrhiza*) caused by long-term NaCl exposure. **Acta Physiol Plant**. 2011 doi: 10.1007/s11738-011-0913-7
- CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. **Pak J Bot** 41:87–98, 2009.
- CHAVES, M.M., FLEXAS, J., PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Ann. Bot.** 103: 551–560, 2009
- CHEN, H.; QUALL, R.; BLANK, R. Effect of soil flooding on photosynthesis, carbohydrate partitioning and nutrient uptake in the invasive exotic *lepidium latifolium*. **Aquatic Botany** 82, 250-268, 2005 doi: 10.1016/j.aquabot.2005.02.013
- CHEN, Z.; POTTOSIN, I.I.; CUIN, T.A.; FUGLSANG, A.T.; TESTER, M.; JHA D., ZEPEDA-JAZO I.; ZHUO, M.; PALMGREN, M.G.; NEWMAN, I.A.; SHABALA, S. Root plasma membrane transporters controlling K⁺/Na⁺ homeostasis in salt-stressed barley. **Plant Physiol** v. 145, pp.1714–1725, 2007.
- CHINNUSAMY, V.; JAGENDORF, A.; ZHU, J-K. Understanding and improving salt tolerance in plants. **Crop Science**, v. 45, p. 437-448, 2005.

CHIRICO, S. High performance liquid chromatography-based thiobarbituric acid tests.

Methods in enzymology, v.233, p. 314-318, 1994.

CHOUDHURY, S.; PANDA, P.; SAHOO, L.; PANDA, S. K. Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. **Plant Signal Behav.** 2013. doi:10.4161/psb.23681

CHRISTOU, A.; MANGANARIS, G. A.; FOTOPOULOS, V. Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plants via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. **Environ Exp Bot** v. 107, pp. 46–54, 2014.

CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 23, pp. 458-460, 1975.

COLMER T.D.; GREENWAY H. Ion transport in seminal and adventitious roots of cereals during O₂ deficiency. **Journal of Experimental Botany** v. 62, pp. 39–57, 2011 doi: 10.1093/jxb/erq271

COLMER, T.D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). **Ann. Bot.** v. 91, pp. 301—309. 2003a.

COLMER, T.D. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. **Plant, Cell and Environment** 26:17–36, 2003b.

COLMER, T.D.; GIBBERD, M.R.; WIENGWEERA, A.; TINH, T.K. The barrier to radial oxygen loss from roots of rice (*Oryza sativa* L.) is induced by growth in stagnant solution. **Journal of Experimental Botany** v. 49, pp. 1431–1436, 1998.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: CONAB, v. 4 - Safra 2016/17, n 7, pp. 1-162, 2017 Disponível em: <

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_04_17_17_20_55_boletim_graos_a_br_2017.pdf>. Acesso em 20 Nov. 2017

CONNELL, D.W. **Basic concepts of environmental chemistry**. Boca Raton: Lewis, 1997.

CONSTABLE, J.V.H.; LONGSTRETH, D.J. Aerenchyma carbon dioxide can be assimilated in *Typha latifolia* L. leaves. **Plant Physiology** 106:1065–1072, 1994.

- CUELLAR-ORTIZ, S. M.; DE LA PAZ ARRIETA-MONTIEL, M.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; COVARRUBIAS, A. A. Relationship between carbohydrate partitioning and drought resistance in common bean. **Plant, Cell & Environment** v. 31, pp. 1399–1409, 2008 doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01853.x
- CUIN, T.A.; BETTS, S.A.; CALAMANDER, R.; SHABALA, S. A root's ability to retain K⁺ correlates with salt tolerance in wheat. **J Exp Bot** 59:2697–2706, 2008.
- DAMAYANTHI, M.M.N., MOHOTI, A.J., NISSANKA, S.P. Comparison of tolerant ability of mature field grown tea (*Camellia sinensis* L.) cultivars exposed to a drought stress in passara area. **Trop. Agr. Res.** 22: 66-75, 2010.
- DAS, P.; MISHRA, M.; LAKRA, N.; SINGLA-PAREEK, S. L.; PAREEK, A. Mutation breeding: A powerful approach for obtaining abiotic stress tolerant crops and upgrading food security for human nutrition. In: TOMLEKOVA, N.; KOJGAR, M. I.; WANI, M. R. **Mutagenesis: Exploring Novel Genes and Pathways**. Wageningen: Wageningen Academic Publisher: 15–36, 2014.
- DAVIS, B.J. Disk eletrophoresis-II: Method and applications to human serum proteins. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 121, p. 404-427, 1964.
- DE LEON, T. B.; LINScombe, S.; GREGORIO, G.; SUBUDHI, P. K. Genetic variation in Southern USA rice genotypes for seedling salinity tolerance. **Front. Plant Sci.** 6: 374, 2015 doi: 10.3389/fpls.2016.00646
- DE SIMONE, O.; HAASE, K.; MÜLLER, E.; JUNK, W.J.; HARTMANN, K.; SCHREIBER, L.; SCHMIDT, W. Apoplasmic barriers and oxygen transport properties of hypodermal cell walls in roots from four Amazonian tree species. **Plant Physiology** 132:206–217, 2003.
- MIRANDA, R. S.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T.; ALVAREZ-PIZARRO, J. C. Ammonium improves tolerance to salinity stress in Sorghum bicolor plants. **Plant Growth Regulation**, v. 78, p. 121-131, 2016 doi: 10.1007/s10725-015-0079-1
- DEL RIO, L.A.; CORPAS, F.J.; SANDALIO, L.M.; PALMA, J.M.; GÓMES, M.; BARROSO, J.B. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1255-1272, 2002.
- DEMIREL T, TURKAN I. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defence systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environ Exp Bot*, 53(3): 247–257, 2005 doi: j.envexpbot.2004.03.017

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. *In*: GHEYI, H. R (Ed.); DIAS, N. S. (Ed.); LACERDA C. F. (Ed.) **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza, INCTsal, 2010 p. 129-140

DURACK, P.J.; WIJFFELS, S.E.; MATEAR, R.J. Ocean salinities reveal strong global water cycle intensification during 1950 to 2000. **Science** 336, 455–458, 2012 doi: 10.1126/science.1212222

ECKARDT, N.A. A new chlorophyll degradation pathway. **Plant Cell** 21: 700, 2009.

EDWARDS, J. M.; ROBERTS, T. H.; ATWELL, B. J. Quantifying ATP turnover in anoxic rice coleoptiles of rice (*Oryza sativa*) demonstrates preferential allocation of energy to protein synthesis. **Journal of Experimental Botany** 63: 4389–4401, 2012 doi: 10.1093/jxb/ers114

EL SAYED H.E.S.A. Influence of salinity stress on growth parameters, photosynthetic activity and cytological studies of *Zea mays* L. plant using hydrogel polymer. **Agric Biol J N Am** 2:907–920, 2011 doi:10.5251/abjna.2011.2.6.907.920

ELSE, M. A.; COUPLAND, D.; DUTTON, L.; JACKSON, M. B. Decreased root hydraulic conductivity reduces leaf water potential, initiates stomatal closure, and slows leaf expansion in flooded plants of castor oil (*Ricinus communis* L.) despite diminished delivery of ABA from the roots to shoots in xylem sap. **Physiol. Plant**, 111 (2001), pp. 46–54 doi: 10.1034/j.1399-3054.2001.1110107.x

ELSE, M. A.; COUPLAND, D.; DUTTON, L.; JACKSON, M. B. Decreased root hydraulic conductivity reduces leaf water potential, initiates stomatal closure and slows leaf expansion in flooded plants of castor oil (*Ricinus communis*) despite diminished delivery of ABA from the roots to shoots in xylem sap. **Physiol. Plant**. 111:46–54, 2001.

EMBRAPA. **Arroz : o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2. ed. rev. ampl. – Brasília, DF 2013.

EMBRAPA. **Cultivo do Arroz Irrigado no Brasil**. Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção, 3 ISSN 1806-9207 Versão Eletrônica. Nov./2005

EMONA, R. M.; ISLAMB, M. M.; HALDERB, J.; FANA, Y. Genetic diversity and association mapping for salinity tolerance in Bangladeshi rice landraces. **The Crop Journal** v.3, i. 5, p. 440–444, 2015 doi: 10.1016/j.cj.2015.04.006

ERNANI, P. R.; ALMEIDA, J. A.; SANTOS, F. C. Poássio. *In*: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.V.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES J. C. L. (Eds.). **Fertilidade do solo**, SBCS, Viçosa p. 550-594, 2007.

EVANS D.E. Aerenchyma formation. **New Phytologist** 161:35–49, 2003.

FANG, Z.; BOUWKAMP, J.; SOLOMOS, T. Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. **J. Exp. Botany** 49, 503–510, 1998.

FAO. Global soil status, processes and trends, *In*: Status of the World's Soil Resources (SWSR) –Main Report, Rome, Italy, 2015.

FARHANGI-ABRIZA, S.; TORABIANB, S. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety** v. 137 Pag. 64–70, 2017 doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.11.029

FERRAZ, R. L. S.; MAGALHÃES, I. D.; BELTRÃO, N. E. M.; MELO, A. S.; NETO, J. F. B.; ROCHA, M. S. Photosynthetic pigments, cell extrusion and relative leaf water content of the castor bean under silicon and salinity. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.** 19(9): 841-848, 2015 doi: 10.1590/1807-1929/agriambi.v19n9p841-848

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA-SILVA, S.L. Mecanismos de proteção oxidativa contra estresses isolados e combinados de seca, salinidade e temperatura elevada em cajueiro. 2008. 175 p. **Tese** (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

FOYER, C. H.; BLOOM, A.J.; QUEVAL, G.; NOCTOR, G. Photorespiratory metabolism: genes, mutants, energetics, and redox signaling. **Annu. Rev. Plant Biol.**, 60, pp. 455–484, 2009.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. **New Phytologist**, v. 146, p. 359-388, 2000.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 119, p. 355-364, 2003.

- FRAGA, T.I.; CARMONA, F.C.; ANGHINONI, I.; GENRO JUNIOR, S.A.; MARCOLIN, E. Flooded rice yield as affected by levels of water salinity in different stages of its cycle. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.175-182, 2010.
- GAINES, T.P.; PARKER, M.B.; GASCHO, G.J. Automated determination of chlorides in soil and plant tissue by sodium nitrate. **Agronomy Journal**, v. 76, p.371-374, 1984.
- GAO, Q.; ZHANG, L. Ultraviolet-B-induced oxidative stress and antioxidant defense system responses in ascorbate-deficient vtc 1 mutants of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 138-148, 2008.
- GAUTAMA, P.; LALA, B.; TRIPATHIA, R.; SHAHIDA, M.; BAIGB, M. J.; MAHARANAA, S.; PUREEA, C.; NAYAK, A. K. Beneficial effects of potassium application in improving submergence tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental and Experimental Botany** 128:18–30, 2016 doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.04.005
- GHOSH, N.; ADAK, M.K.; GHOSH, P.D.; GUPTA, S.; SEN GUPTA, D.N.; MANDAL, C. Differential responses of two rice varieties to salt stress. **Plant Biotechnol. Rep.** 5, 89–103, 2011.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiol.** V. 59, p. 309–14, 1977.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48:909-930, 2010 doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- GONDIM, F. A.; MIRANDA, R. S.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T. Enhanced salt tolerance in maize plants induced by H₂O₂ leaf spraying is associated with improved gas exchange rather than with non-enzymatic antioxidant system. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, 25(4): 251-260, 2013.
- GONG, M.; CHEN, B.; ZHONG-GUANG, L.; GUO, L. Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in stress in maize seedlings and involvement of H₂O₂. **Journal of Plant physiology**, v. 158, p. 1125-1130, 2001.
- GRIFFITH, O.W. Determination of glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. **Analytical Biochemistry**, v. 106, p. 207-212, 1980.

GUIMARÃES, J.R. e NOUR, E.A.A. Tratando nossos esgotos: Processos que imitam a natureza. In: GIORDAN, M. e JARDIM, W.F. (Eds.). **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 1, p. 19- 30, 2001.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, p. 312-322, 2006.

HAQUE, M. E.; ABE, F.; KAWAGUCHI, K. Formation and extension of lysigenous aerenchyma in seminal root cortex of spring wheat (*Triticum aestivum* cv. Bobwhite line SH 98 26) seedlings under different strengths of waterlogging. **Plant Root** 4:31 –39, 2010.

HARRIS, P. J. C.; ASHRAF, M. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica** 51 (2): 163-190, 2013 DOI: 10.1007/s11099-013-0021-6

HASANUZZAMAN, M., NAHAR, K., AND FUJITA, M. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages In: *Ecophysiology and Responses of Plants Under Salt Stress*, eds P. Ahmed, M. M. Azooz, and M. N. V. Prasad (New York, NY: Springer), 25–87, 2013. doi: 10.1007/978-1-4614-4747-4_2

HENZLER, T.; STEUDEL, E. Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in *Chara corallina*: model calculations and measurements with the pressure probe suggest transport of H₂O₂ across water channels. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 2053-2066, 2000.

Hoang, T. M. L.; Tran, T. N.; Nguyen, T. K. T.; Williams, B.; Wurm, P.; Bellairs, S.; MundreE, S. Improvement of salinity stress tolerance in rice: challenges and opportunities. **Agronomy** 6(4):54, 2016 doi:10.3390/agronomy6040054

HOLANDA, J. S.; AMORIM, J. R. A.; FERREIRA NETO, M.; HOLANDA, A. C. Qualidade da água para irrigação. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p. 43-61, 2010.

HOQUE, M. A.; BANU, M. N.; OKUMA, E.; AMAKO, K.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco bright yellow-2 suspension-cultured cells. **Journal of Plant Physiology** 164, 1457–1468, 2007

- HORIE, T.; SCHROEDER, J. I. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. **Plant Physiology**, v.136, p.2457-2462, 2004.
- HOROBIN, R.W. **Conn's biological stains: A handbook of dyes, stains and fluorochromes for use in biology and medicine**. 1st ed. BIOS Scientific Publ, Oxford. pp. 1-502, 2002.
- HU, Y.; BURUCS, Z.; TUCHER, S.V.; SCHMIDHALTER, U. Short-term effects of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings. **Environ Exp Bot** 60:268–275, 2007 doi:10.1016/j.envexpbot.2006.11.003
- HUMMEL, I.; PANTIN, F.; SULPICE, R.; PIQUES, M.; ROLLAND, G.; DAUZAT, M.; CHRISTOPHE, A.; PERVENT, M; BOUTEILLÉ, M; STITT, M. *et al.*, Arabidopsis plants acclimate to water deficit at low cost through changes of carbon usage: an integrated perspective using growth, metabolite, enzyme, and gene expression analysis. **Plant Physiology** 154, pp. 357–372, 2010 doi: 10.1104%2Fpp.110.157008
- JACKSON, M.B.; ARMSTRONG, W. Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. **Plant Biol.** 1:274—287. 1999.
- JACKSON, M.B.; FENNING, T.M.; JENKINS, W. Aerenchyma (gas-space) formation in adventitious roots of rice (*Oryza sativa* L.) is not controlled by ethylene or small partial pressures of oxygen. **Journal of Experimental Botany** 36:1566–1572, 1985.
- JACKSON, M.B.; HERMAN, B.; GOODENOUGH, A. An examination of the importance of ethanol in causing injury to flooded plants. **Plant Cell Environ.** 5: 163—172. 1982.
- JAMBUNATHAN, N. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants. **Methods Mol. Biol.** 639:291-297, 2010 doi: 10.1007/978-1-60761-702-0_18
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill, New York. pp. 1-523, 1940.
- JUAN, M., RIVERO, R.M., ROMERO, L., RUIZ, J.M. Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt resistant tomato cultivars. **Environ. Exp. Bot.** 54: 193-201, 2005.
- KARNOVISKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p.137-138, 1965.
- KASHENGE-KILLENGA, S.; TONGOONA, P.; DERERA, J.; KANYEKA, Z. Farmers perception of salt affected soils and rice varieties preferences in the north-eastern Tanzania

and their implications in breeding. **International Journal of Development and Sustainability** 3, 6:1277-1271, 2014.

KASTEN, F.H. The origins of modern fluorescent microscopy and fluorescent probes. In: KOHEN, E.; HIRSCHBERG, J.G. **Cell structure and function by microspectrofluorometry**, Eds. Academic Press, San Diego, CA. pp. 3-5, 1989.

KAUR, N.; DHAWAN, M.; SHARMA, I.; PATI, P. K. Interdependency of reactive oxygen species generating and scavenging system in salt sensitive and salt tolerant cultivars of rice. **BMC Plant Biol** 16(1): 131, 2016 doi: 10.1186/s12870-016-0824-2

KAYA, C.; TUNA, A.L.; OKANT, A.M. Effect of foliar applied kinetin and indole acetic acid on maize plants grown under saline conditions. **Turk J Agric** for 34:529–538, 2010 doi:10.3906/tar-0906-173

KHAN, H. A.; SIDDIQUE, K. H. M.; MUNIR, R.; COLMER, T. D. Salt sensitivity in chickpea: Growth, photosynthesis, seed yield components and tissue ion regulation in contrasting genotypes. *Journal of Plant Physiology* 182, 1–12, 2015 doi:10.1016/j.jplph.2015.05.002

KHAN, M. S.; HEMALATHA, S. Biochemical and molecular changes induced by salinity stress in *Oryza sativa* L. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 7, p. 1-9, 2016 doi: 10.1007/s11738-016-2185-8

KIBRIA, M. G.; HOSSAIN, M. MURATA, Y.; HOQUE, Md. A. Antioxidant Defense Mechanisms of Salinity Tolerance in Rice Genotypes. **Rice Science**, 24(3): 155-162, 2017 doi: 10.1016/j.rsci.2017.05.001

KOTULA, L.; CLODE, P. L.; STRIKER, G. G., PEDERSEN, O.; LÄUCHLI, A.; SHABALA, S.; COLMER, T. D. Oxygen deficiency and salinity affect cell-specific ion concentrations in adventitious roots of barley (*Hordeum vulgare*). **New Phytologist**, 208: 1114–1125, 2015a doi: 10.1111/nph.13535

KOTULA, L.; KHAN, H. A.; QUEALY, J.; TURNER, N. C.; VADEZ, V.; SIDDIQUE K. H. M.; *et al.*, Salt sensitivity in chickpea (*Cicer arietinum* L.): ions in reproductive tissues and yield components in contrasting genotypes. *Plant Cell Environ*, 38(8):1565–1577, 2015 doi: 10.1111/pce.12506

KOTULA, L.; RANATHUNGE, K.; SCHREIBER, L.; STEUDLE, E. Functional and chemical comparison of apoplastic barriers to radial oxygen loss in roots of rice (*Oryza sativa*

L.) grown in aerated or deoxygenated solution. **Journal of Experimental Botany**, Vol. 60, No. 7, pp. 2155–2167, 2009.

KREUZWIESER, J.; HAUBERG, J.; HOWELL, K.A.; CARROLL, A.; RENNENBERG, H.; MILLAR, A.H.; WHELAN, J. Differential response of gray poplar leaves and roots underpins stress adaptation during hypoxia. **Plant Physiology** 149, 461–473, 2009 doi: 10.1104/pp.108.125989

LACERDA, C.F.; SOUSA, C.H.C.; NEVES, A.L.R.; AMORIM, A.V.; GOMES-FILHO, E. Plantas tolerantes e moderadamente tolerantes à salinidade. *In*: ANDRADE, E.M.; PEREIRA, O.J.; DANTAS, F. E. R. (Eds.). **Semiárido e manejo adequado de seus recursos naturais**, Fortaleza: Expressão gráfica e editora, 2ª Ed. p. 319-338, 2016.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. 2 ed. New York: Springer, 2008.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Ed.Rima Artes e Textos, 2000. 531p.

LARSEN, M.; SANTNER, J.; OBURGER, E.; WENZEL, W. W.; GLUD, R. N. O₂ dynamics in the rhizosphere of young rice plants (*Oryza sativa* L.) as studied by planar optodes. **Plant Soil** 390:279–292, 2015 doi: 10.1007/s11104-015-2382-z

LAW, M.Y.; CHARLES, S.A.; HALLIWELL, B. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of peroxide hydrogen and paraquat. **Biochemical Journal**, v. 210, p. 899-903, 1983.

LEE, D. H.; KIM, Y. S.; LEE, C. B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Physiology**, 158, 737–745, 2001 doi: 10.1078/0176-1617-00174

LI, C.; BAI, T.; MA, F.; HAN, M. Hypoxia tolerance and adaptation of anaerobic respiration to hypoxia stress in two *Malus* species. **Scientia Horticulturae** 124:274–279, 2010 doi: 10.1016/j.scienta.2009.12.029

LI, J. C.; WEI, F. Z.; WANG, C. Y.; YIN, J. Effects of waterlogging on senescence of root system at booting stage in winter wheat. **Acta Agronomica Sinica** 9:1355-1360, 2006.

LIAO, Y. D.; LIN, K. H.; CHEN, C. C.; CHANG, C. M. *Oryza sativa* protein phosphatase 1a (OsPP1a) involved in salt stress tolerance in transgenic rice. **Mol Breeding**, 36: 22, 2016 doi: 10.1007/s11032-016-0446-2

LLESUY, S.F. Introducción y espécies activas de oxigênio. *In*: MARRONI, N. P. (org.).

Estresse Oxidativo e Antioxidantes. Canoas: Ed. ULBRA, p.21-32, 2002.

LOBELL, D.B., BURKE, M.B., TEBALDI, C., MASTRANDREA, M.D., FALCON, W.P., NAYLOR, R.L. Prioritizing climate change adaptation needs for food security in 2030.

Science 319, 607–610. 2008.

LOBO, A. K. M.; MARTINS, M. DE O.; LIMA NETO, M. C.; BONIFÁCIO, A.; SILVEIRA, J. A. G. Compostos nitrogenados e carboidratos em sorgo submetido à salinidade e

combinações de nitrato e amônio. **Revista Ciência Agronômica** 42:390-397, 2011 doi:

10.1590/S1806-66902011000200018

LOPES, M.S., REYNOLDS, M.P., JALAL-KAMALI, M.R., MOUSSA, M., FELTAOUS, Y., TAHIR, I.S.A., BARMA, N., VARGAS, M., MANNES, Y., BAUM, M. The yield correlations of selectable physiological traits in a population of advanced spring wheat lines grown in

warm and drought environments. **Field Crop. Res.** 128: 129-136, 2012.

LOUREIRO, R. R.; REIS, R. P.; MARROIG, R.G. Effect of the commercial extract of the brown alga *Ascophyllum nodosum* Mont. on *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C. Silva in situ submitted to lethal temperatures. **J Appl Phycol.** 26(1), 629–634, 2014,

doi:10.1007/s10811-013-0085-5

LUCENA, C. C.; SIQUEIRA, D. L.; MARTINEZ, H. E. P.; CECON, P. R. Efeito do estresse salino na absorção de nutrientes em mangueira. **Rev. Bras. Frutic.** v. 34, n. 1, p. 297-308,

2012.

MACHADO, E. C.; LAGÔA, A. M. M. A. Trocas gasosas e condutância estomática em três espécies de gramíneas. **Bragantia**, Campinas, 53(2):141-149, 1994.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Reposas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária**

Brasileira, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005 doi: 10.1590/S0100-204X2005001200002

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. p.201, 1989.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p. 1997.

MALIK, A. I.; ENGLISH, J. P.; COLMER, T. D. Tolerance of *Hordeum marinum* accessions to O₂ deficiency, salinity and these stresses combined. **Annals of Botany** 103: 237–248, 2009 doi: 10.1093/aob/mcn142

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, p.660-666, 2013.

MARQUES, E.C.; FREITAS, V.S.; BEZERRA, M.A.; PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Efeito do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 993-999, 2011.

MARTINEZ-BALLESTA, M. C.; CARVAJAL M. New challenges in plant aquaporin biotechnology. **Plant Science** 217–218:71–77, 2014 doi: 10.1016/j.plantsci.2013.12.006

MARTINEZ-BALLESTA, M.C.; CABANERO, F.; OLMOS, E.; PERIAGO, P.M.; MAUREL, C.; CARVAJAL, M. Two different effects of calcium on aquaporins in salinity-stressed pepper plants. **Planta** 228, 15–25, 2008 doi: 10.1007/s00425-008-0714-4

MCDONALD, M.P.; GALWEY, N.W.; COLMER, T.D. Waterlogging tolerance in the tribe Triticeae: the adventitious roots of *Critesion marinum* have a relatively high porosity and a barrier to radial oxygen loss. **Plant, Cell and Environment** 24: 585–596, 2001.

MELO, H. F.; SOUZA, E. R.; DUARTE, H. H. F.; CUNHA, J. C.; SANTOS, H. R. B. Gas exchange and photosynthetic pigments in bell pepper irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 21(1), 38-43, 2017 doi: 10.1590/1807-1929/agriambi.v21n1p38-43

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment** 33:453–467, 2010 doi: 10.1111 /j.1365-3040.2009.02041.x

MISHRA, S.; SINGH, B.; PANDA, K.; SINGH, B. P.; SINGH, N.; MISRA, P.; RAI, V.; SINGH, N. K. Association of SNP haplotypes of HKT family genes with salt tolerance in Indian wild rice germplasm. **Rice**, 9(1): 15, 2016 doi: 10.1186/s12284-016-0083-8

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends Plant Sci.** 22(1), pp 11-19, 2017 doi: 10.1016/j.tplants.2016.08.002

- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 490-498, 2004.
- MITTOVA, V.; TAL, M.; VOLOKITA, M.; GUY, M. Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. **Plant, Cell & Environment** 26:845–856, 2003.
- MIYAMOTO, N.; STEUDLE, E.; HIRASAWA, T.; LAFITTE, R. Hydraulic conductivity of rice roots. **Journal of Experimental Botany** 52,1835–1846, 2001 doi: 10.1093/jexbot/52.362.1835
- MØLLER, I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, p. 561–591, 2001.
- MONIRIFAR, H., BARGHI, M. Identification and selection for salt tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes via physiological traits. **Notulae Sci. Biol.** 1: 63-66, 2009.
- MORADI, F.; ISMAIL, A.M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. **Ann. Bot.**, 99, 1161–1173, 2007 doi: 10.1093/aob/mcm052
- MUGNAI, S.; MARRAS, A.M.; MANCUSO, S. Effect of hypoxic acclimation on anoxia tolerance in *Vitis* roots: response of metabolic activity and K⁺ fluxes. **Plant Cell Physiol.** 52:1107–1116, 2011.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.
- MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, v. 167, p. 645-663, 2005.
- NAKANO, Y.; ASADA, K., Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, **Plant Cell Physiol.** V. 22 p. 867-880, 1981.
- NATH, M.; BHATT, D.; PRASAD, R.; GILL, S. S.; ANJUM, N. A.; TUTEJA N. Reactive oxygen species generation scavenging and signaling during plant-arbuscular mycorrhizal and *Piriformospora indica* interaction under stress condition. **Front. Plant Sci.**, 7:1574, 2016 doi: 10.3389/fpls.2016.01574

NOCTOR, G. VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; DRISCOLL, S.; NOVITSKAYA, L.; FOYER C.H. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? **Ann. Bot.**, 89:841–850 2002.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 249-279, 1998.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. Oxidative stress and antioxidative systems: recipes for successful data collection and interpretation. **Plant Cell Environ.** 39, 1140–1160, 2016 doi: 10.1111/pce.12726

NOREEN, Z., ASHRAF, M., AKRAM, N.A. Salt-induced modulation in some key gas exchange characteristics and ionic relations in pea (*Pisum sativum* L.) and their use as selection criteria. **Crop Pasture Sci.** 61: 369-378, 2010.

OLIVEIRA, A. K. M.; GUALTIERI, S. C. J. Trocas gasosas e grau de tolerância ao estresse hídrico induzido em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (paratudo) submetidas a alagamento. **Ciência Florestal** 27(1)181-191, 2017.

ORTIZ, R., SAYRE, K.D., GOVAERTS, B., GUPTA, R., SUBBARAO, G.V., BAN, T., HODSON, D., DIXON, J.A., ORTIZ-MONASTERIO, J.I., REYNOLDS, M. Climate change: Can wheat beat the heat? **Agric. Ecosyst. Environ.** 126, 46–58. 2008.

PANG, J. Y.; ZHOU, M. X.; MENDHAM, N.; SHABALA, S. Growth and physiological responses of six barley genotypes to waterlogging and subsequent recovery. **Aust. J. Agric. Res.** 55:895–906 2004.

PERDOMO, J. A.; CAPÓ-BAUÇA, S.; CARMO-SILVA, E.; GALMÉS, J. Rubisco and rubisco activase play an important role in the biochemical limitations of photosynthesis in rice, wheat, and maize under high temperature and water deficit. **Front. Plant Sci.**, 8: 490, 2017 doi: 10.3389/fpls.2017.00490

PEREIRA, J. A. **Cultura do arroz no Brasil**: subsídios para a sua história. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002. 226p.

PEREIRA, T. S.; LOBATO, A. K. S.; ALVES, G. A. R.; FERREIRA, R. N.; SILVA, O. N.; MARTINS FILHO, A. P.; PEREIRA, E. S.; SAMPAIO, L. S. Tolerance to waterlogging in young *Euterpe oleracea* plants. **Photosynthetica** 52: 186, 2014 doi:10.1007/s11099-014-0021-1

- PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Regulation in gas exchange and quantum yield of photosystem II (PSII) in salt-stressed and non-stressed wheat plants raised from seed treated with triacontanol. – **Pak. J. Bot.** 42: 3073-3081, 2010.
- PETERHANSEL, C.; HORST, I.; NIESSEN, M.; BLUME, C.; KEBEISH, R.; KÜRK-CÜOĞLU, S.; KREUZALER F. **Photorespiration**. *Arabidopsis Book*, 8, p. e0130, 2010.
- PETROV, V. D.; VAN BREUSEGEM, F. Hydrogen peroxide—a central hub for information flow in plant cells. **AoB PLANTS**, Invited review, 2012.
- PILAHOME, W.; BUNNAG, S.; SUWANAGUL, A. Two-step salt stress acclimatization confers marked salt tolerance improvement in four rice genotypes differing in salt tolerance. **Arab J Sci Eng** 42:2191–2200, 2017 doi: 10.1007/s13369-016-2335-8
- PIMENTEL, C.; SARR B.; DIOUF, O.; ABOUD, A. C. S.; ROY-MACAULEY, H. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. **Revista Universidade Rural**, Série Ciências da Vida, v. 22, p. 07-14, 2002.
- POLACIK, K. A.; MARICLE, B. R. Effects of flooding on photosynthesis and root respiration in saltcedar (*Tamarix ramosissima*), an invasive riparian shrub. **Environ. Exp. Bot.** 89:19–27, 2013 doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.12.005
- PRASAD, T. K.; ANDERSON, M. D.; MARTIN, B. A.; STEWART, C. R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **The Plant Cell**, v. 6, p. 65-74, 1994.
- QIU-FANG, Z.; YUAN-YUAN, L.; CAI-HONG, P.; CONG-MING, L.; BAO-SHAN, W. NaCl enhances thylakoid-bound SOD activity in the leaves of C3 halophyte *Suaeda salsa* L. **Plant Sci.** 168, 423–430, 2005 doi: 10.1016/j.plantsci.2004.09.002
- QU, C.; LIU, C.; GONG, X.; LI, C.; HONG, M.; WANG, L.; HONG, F. Impairment of maize seedling photosynthesis caused by a combination of potassium deficiency and salt stress. **Environ Exp Bot** 75:134–141, 2012 doi:10.1016/j.envexpbot.2011.08.019
- QUEVAL, G.; ISSAKIDIS-BOURGUET, E.; HOEBERICHTS, F.A.; VANDORPE, M.; GAKIÈRE, B.; VANACKER, H.; MIGINIAC-MASLOW, M.; VAN BREUSEGEM, F.; NOCTOR, G. Conditional oxidative stress responses in the Arabidopsis photorespiratory mutant *cat2* demonstrate that redox state is a key modulator of daylength-dependent gene expression, and define photoperiod as a crucial factor in the regulation of H₂O₂-induced cell death. **Plant J.** 52, 640–657, 2007 doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03263.x

- RAHMAN, A.; NAHAR, K.; HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Calcium supplementation improves Na^+/K^+ ratio, antioxidant defense and glyoxalase systems in salt stressed rice seedlings. **Frontiers in Plant Science** vol. 7 art. 609, 2016 doi: 10.3389/fpls.2016.00609
- RAJHI, I.; YAMAUCHI, T.; TAKAHASHI, H.; NISHIUCHI, S.; SHIONO, K.; WATANABE, R.; MLIKI, A.; NAGAMURA, Y.; TSUTSUMI, N.; NISHIZAWA, N. K.; NAKAZONO, M. Identification of genes expressed in maize root cortical cells during lysigenous aerenchyma formation using laser microdissection and microarray analyses. **New Phytologist** 190:351 – 368, 2011 doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03535.x
- RANATHUNGE, K.; LIN, J.; STEUDLE, E.; SCHREIBER, L. Stagnant deoxygenated growth enhances root suberization and lignifications, but differentially affects water and NaCl permeabilities in rice (*Oryza sativa* L.) roots. **Plant, Cell and Environment** 34:1223–1240, 2011 doi: 10.1111 /j.1365-3040.2011.02318.x
- RANATHUNGE, K.; SCHREIBER, L. Water and solute permeabilities of Arabidopsis roots in relation to the amount and composition of aliphatic suberin. **Journal of Experimental Botany** 62, 1961–1974, 2011 doi:10.1093/jxb/erq389
- RANATHUNGE, K.; STEUDLE, E.; LAFITTE, R. Control of water uptake by rice (*Oryza sativa* L.): role of the outer part of the root. **Planta** v. 217, pp. 193–205, 2003 doi: 10.1007/s00425-003-0984-9
- RANGEL, P. H. N.; NEVES, P. C. F. Selección recurrente aplicada al arroz de riego en Brasil. In: GUIMARÃES, E. P. (ed). **Selección Recurrente en Arroz**. Cali: CIAT. (Publicación CIAT,267). p. 79-97. 1997.
- RAZA, S.H., ATHAR, H.R., ASHRAF, M. Influence of exogenously applied glycinebetaine on the photosynthetic capacity of two differently adapted wheat cultivars under salt stress. **Pak. J. Bot.** 38: 341-351, 2006.
- REYNOLDS, M.P., DELGADO, M.I., GUTIERREZ RODRIGUEZ, M., LARQUE-SAAVEDRA, A. Photosynthesis of wheat in a warm, irrigated environment. I. Genetic diversity and crop productivity. **Field Crop. Res.** 66: 37-50, 2000.
- RICHARDS, L. A. (Ed.) **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. USDA Agriculture Handbook 60, Washington D. C. 1954.

- RINNE, K.T.; SAURER, M.; STREIT, K.; SIEGWOLF, R.T.W. Evaluation of a liquid chromatography method for compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ analysis of plant carbohydrates in alkaline media. **Rapid Commun Mass Spectrom** 26:2173–2185, 2012.
- RIVOAL, J.; HANSON, A.D. Metabolic control of anaerobic glycolysis. Overexpression of lactate dehydrogenase in transgenic tomato roots supports the Davies-Roberts hypothesis and points to a critical role for lactate secretion. **Plant Physiol.** 106: 1179—1185. 1994.
- ROMERO, L., BELAKBIR, A., RAGALA, L., RUIZ, J.M. Response of plant yield and leaf pigments to saline conditions: effectiveness of different rootstocks in melon plants (*Cucumis melo* L.). **Soil Sci. Plant Nutr.** 43: 855-862, 1997.
- ROMERO-PUERTAS, M. C.; CORPAS, F. J.; RODRIGUEZ-SERRANO, M. GOMEZ, M.; DEL RIO, L. A.; SANDALIO, L. M. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants, **J. Plant Physiol.** 164:1346-1357, 2007 doi: 10.1016/j.jplph.2006.06.018
- ROY, S.; CHAKRABORTY, U. Cross-generic studies with rice indicate that ion homeostasis and antioxidant defense is associated with superior salinity tolerance in *Cynodon dactylon* (L.) **Pers. Ind J Plant Physiol.** 20(1):14–22, 2015 doi: 10.1007/s40502-014-0129-0
- RUZIN, S.E. **Plant microtechnique and microscopy**. Oxford University Press, New York. pp. 1-322, 1999.
- SABIR, P., ASHRAF, M., HUSSAIN, M., JAMIL, A. Relationship of photosynthetic pigments and water relations with salt tolerance of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) accessions. **Pak. J. Bot.** 41: 2957-2964, 2009.
- SANDALIO, L. M.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; ROMERO- PUERTAS, M. C.; DEL RIO, L. A. Role of peroxisomes as a source of reactive oxygen species ROS signaling molecules. **Subcell. Biochem.**, 69, pp. 231–255, 2013 doi: 10.1007/978-94-007- 6889-5_13
- SANTOS, C.V., Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. **Sci. Hortic.** 103, 93-99. 2004 doi: 10.1016/j.scienta.2004.04.009
- SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba, ESALQ, Departamento de Química, 56p., 1974.
- SCARDACI, S.C., EKE, A.U., HILL, J.E., SHANNON, M.C., RHOADES, J.D. Water and soil salinity studies on California rice. **Rice Pub.** No. 2, Coop. Ext., University of California, Colusa, CA. 1996.

- SCHNEIDER, P.; SPERA, S.T. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-SPI, 2009.
- SCHROEDER, J. I., KWAK, J. M., ALLEN, G. J. Guard cell abscisic acid signalling and engineering drought hardiness in plants. **Nature** 410: 327–330, 2001 doi: 10.1038/35066500
- SERGIEV, I.; ALEXIEVA, V.; KARANOV, E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. **Comptes Rendus Academie Bulgare des Sciences**, v.51, p.121-124, 1997.
- SHABALA, S.; SHABALA, L.; BARCELO, J.; POSCHENRIEDER, C. Membrane transporters mediating root signalling and adaptive responses to oxygen deprivation and soil flooding. **Plant Cell Environ** 37, 2216-2233, 2014 doi: 10.1111/pce.12339
- SHAN, C.; LIU, R. Exogenous hydrogen peroxide up-regulates the contents of ascorbate and glutathione in the leaves of *Vigna radiata* (Linn.) Wilczek. exposed to salt stress. **Braz. J. Bot**, 40: 583, 2017 doi:10.1007/s40415-016-0354-z
- SHINOZAKI, K.; UEMURA, M.; BAILEY-SERRES, J.; ELIZABETH A. BRAY, E. A.; WERETILNYK, E. Responses to Abiotic Stress. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (2Eds.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, John Wiley & Sons: American Society of Plant Physiologists, p. 1051-1100, 2015.
- SIKUKU, P.A., NETONDO, G.W., ONYANGO, J.C., MUSYIMI, D.M. Chlorophyll fluorescence, protein and chlorophyll content of three NERICA rainfed rice varieties under varying irrigation regimes. **ARPN J. Agr. Biol. Sci.** 5: 19-25, 2010.
- SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; LACERDA, C. F.; SOUSA, C. H. C.; CHAGAS, K. L. Pigmentos fotossintéticos e potencial hídrico foliar em plantas jovens de coqueiro sob estresses hídrico e salino. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 10, n. 4, p. 317-325, outubro-dezembro, 2016. doi: 10.18227/1982-8470ragro.v10i4.3650
- SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L.; FONTENELE, A. V.; RIBEIRO, R. V.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Physiology** 167:1157–1164, 2010 doi: 10.1016/j.jplph.2010.03.005
- SILVA, M. V. Elementos para a história do arroz no Brasil. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v.4, n.39, p. 19-23 1950.

- SIMOVA-STOILOVA, L.; DEMIREVSKA, K.; PETROVA, T.; TSENOV, N.; FELLER, U. Antioxidative protection and proteolytic activity in tolerant and sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties subjected to long-term field drought. **Plant Growth Regulation**, v. 58, p. 107-117. 2009.
- SINGH, M. SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Responses of photosynthesis, nitrogen and proline metabolism to salinity stress in *Solanum lycopersicum* under different levels of nitrogen supplementation. **Plant Physiology and Biochemistry**, 109,72 – 83, 2016 doi: 10.1016/j.plaphy.2016.08.021
- SINGH, V. P.; SINGH, S.; KUMAR, J.; PRASAD S.M. Investigating the roles of ascorbate-glutathione cycle and thiol metabolism in arsenate tolerance in ridged Luffa seedlings. **Protoplasma**, 252, pp. 1217–1229, 2015 doi: 10.1007/s00709-014-0753-6
- SITNICKA, D.; ORZECZOWSKI, S. Cold-induced starch degradation in potato leaves — intercultur differences in the gene expression and activity of key enzymes. **Biologia Plantarum** 58: 659–666, 2014 doi: 10.1007/s10535-014-0453-2
- SLESAK, I.; LIBIK, M.; KARPINSKA, B.; KARPINSKI, S.; MISZALSKI, Z. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. **Acta Biochimica Polonica**, v. 54, p. 39-50, 2007.
- SMEETS, K.; OPDENAKKER, K.; REMANS, T.; VAN SANDER, S.; VAN BELLEGHEM, F.; SEMANE, B.; HOREMANS, N.; GUISEZ, Y. VANGRONSVELD, J.; CUYPERS, A. Oxidative stress-related responses at transcriptional and enzymatic levels after exposure to Cd or Cu in a multipollution context. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, p. 1982-1992, 2009.
- SOUKUP, A.; ARMSTRONG, W.; SCHREIBER, L.; FRANKE, R.; VOTRUBOVA, O. Apoplastic barriers to radial oxygen loss and solute penetration: a chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species, *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. **New Phytol.** 173: 264—278. 2007.
- SULTANA, N.; IKEDA, T.; ITOH, R. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v.42, n.3, p.211-220, 1999.
- SUZUKI, S.; SUZUKI, Y.; YAMAMOTO, N.; HATTORI, T.; SAKAMOTO, M.; UMEZAWA, T. High-throughput determination of thioglycolic acid lignin from rice. **Plant Biotechnol** 26: 337–340, 2009.

Taiz L., Zeiger E., Møller I. M. Fisiologia vegetal. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TANG, X.; MU, X.; SHAO, H.; WANG, H.; BRESTIC, M. Global plant-responding mechanisms to salt stress: physiological and molecular levels and implications in biotechnology. **Crit. Rev. Biotechnol** 35, 425–437, 2015 doi: 10.3109/07388551.2014.889080

THALMANN, M.; SANTELIA, D. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. **New Phytologist** 214(3), pp. 943-951, 2017 doi: 10.1111/nph.14491

TOURNAIRE-ROUX, C.; SUTKA, M.; JAVOT, H.; GOUT, E.; GERBEAU, P.; LUU, D.T.; ... MAUREL C. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. **Nature** 425, 393–397, 2003.

UMALI, D.L. **Irrigation-Induced Salinity a Growing Problem for Development, and the Environment**; The Word Bank: Washington, DC, USA, 1993.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, K. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase, **Acta Phys. Plant.** V.13 p. 43–50, 1991.

VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) — differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v. 165, p. 1411-1418, 2003.

VAN HEERDEN, P.D.R.; KRÜGER, G.H.J.; LOVELAND, J.E.; PARRY, M.A.J.; FOYER, C.H. Dark chilling imposes metabolic restrictions on photosynthesis in soybean. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 323-337, 2003.

VANDELEUR, R.; NIEMIETZ, C.; TILBROOK, J.; TYERMAN, S.D. Roles of aquaporins in root responses to irrigation. **Plant and Soil** 274, 141–161, 2005 doi:10.1007/s11104-004-8070-z

VASQUEZ-TELLO, A.; ZUILY-FODIL, Y.; PHAM THI, A. T.; VIEIRA DA SILVA, J. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in Phaseolus and Vigna species. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, p. 827-32, 1990.

VIDAL, B.C. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. **Cell Molecular Biology**, v. 22, p. 45-64, 1977.

- VIEIRA, J.; MARSCHALEK, R.; SCHIOCCHET, M.A. **Cultivares de arroz da Epagri – Descrição e caracterização**. Florianópolis: Epagri, 76p. (Epagri. Boletim Técnico, 138) 2007.
- VOESENEK, L.; SASIDHARAN, R. Ethylene – and oxygen signalling – drive plant survival during flooding. **Plant Biology** 15, 426–435 2013 doi: 10.1111/plb.12014
- VRANOVÁ, E.; INZÉ, D.; BREUSEGEM, F. V. Signal transduction during oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1227-1236, 2002.
- WANGA, Y., FREI, M. Stressed food – The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 141 p. 271– 286, 2011.
- WASSMANN, R., JAGADISH, S.V.K., HEUER, S., ISMAIL, A., REDONA, E., SERRAJ, R., SINGH, R.K., HOWELL, G., PATHAK, H., SUMFLETH, K. Climate change affecting rice production: the physiological basis for possible adaptation strategies. **Adv. Agron.** 101, 59–122. 2009.
- WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **J. Plant Physiol.**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.
- WILLADINO, L.; CÂMARA, T.R. Aspectos fisiológicos do estresse salino em plantas. *In*: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E. de L.; WILLADINO, L.; CAVALCANTE, U.M.T. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 500 p.
- YAHYA, A. Salinity effects on growth and on uptake and distribution of sodium and some essential mineral nutrients in sesame. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 7, p. 1439-1451, 1998.
- YAMAUCHI, T.; RAJHI, I.; NAKAZONO, M. Lysigenous aerenchyma formation in maize root is confined to cortical cells by regulation of genes related to generation and scavenging of reactive oxygen species. **Plant Signaling and Behavior** 6:759–761, 2011.
- YANG, Y.; HAN, C.; LIU, Q.; LIN, B.; WANG J. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings, **Acta Physiol. Plant.** 30:433-440, 2008 doi: 10.1007/s11738-008-0140-z
- YIN, Y-G.; KOBAYASHI, Y.; SANUKI, A.; KONDO, S.; FUKUDA, N.; EZURA, H.; SUGAYA, S.; MATSUKURA, C. Salinity induces carbohydrate accumulation and sugar-

regulated starch biosynthetic genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. 'Micro-Tom') fruits in an ABA- and osmotic stress-independent manner. **Journal of Experimental Botany** 61, pp. 563–574, 2010 doi: 10.1093/jxb/erp333

YORDANOVA, R.; CHRISTOV, K.; POPOVA, L. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany** 51, 93–101, 2004 doi:10.1016/S0098-8472(03)00063-7

ZENG, L.; LESCH, S. M.; GRIEVE, C. M. Rice growth and yield respond to changes in water depth and salinity stress. **Agricultural Water Management** v.59 p. 67–75, 2003 doi: 10.1016/S0378-3774(02)00088-4

ZENG, L.; SHANNON, M.C.; LESCH, S.M. Timing of salinity stress affects rice growth and yield components. **Agric. Water Manag.** 48, 191–206, 2001.

ZHOU, J.; WANG, X.; JIAO, Y.; QIN, Y.; LIU, X.; HE, K.; *et al.*, Global genome expression analysis of rice in response to drought and high-salinity stresses in shoot, flag leaf, and panicle. **Plant Molecular Biology**, 63, 591–608, 2007.

ZHU, J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 247-273, 2002.